



Effets des changements climatiques sur la dynamique de décomposition microbienne du carbone organique du sol en prairie subalpine calcaire

Jeremy Puissant

► To cite this version:

Jeremy Puissant. Effets des changements climatiques sur la dynamique de décomposition microbienne du carbone organique du sol en prairie subalpine calcaire. Biodiversité et Ecologie. Université Grenoble Alpes, 2015. Français. NNT : 2015GREAS008 . tel-01259628

HAL Id: tel-01259628

<https://theses.hal.science/tel-01259628>

Submitted on 20 Jan 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

Spécialité : **Modèles, méthodes et algorithmes pour la
Biologie, la Santé et l'environnement**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

Jérémy PUISSANT

Thèse dirigée par **Jean-Jacques BRUN**
préparée au sein de **Irstea de Grenoble**
dans l'**École Doctorale Ingénierie pour la Santé, la Cognition et
l'Environnement**

Effets des changements climatiques sur la dynamique de décomposition microbienne du carbone organique du sol en prairie subalpine calcaire

Thèse soutenue publiquement le **21 septembre 2015**,
devant le jury composé de :

Mme. Annette Bérard

Ingénieur en chef spécialiste du GREF, INRA Avignon (Rapporteur)

M. Thierry Gauquelin

Professeur CNRS, Université d'Aix Marseille (Rapporteur)

Mme. Christiane Gallet

Professeure CNRS, Université de Grenoble (Examinatrice, Présidente)

M. Raphael Gros

Maître de Conférences, Université d'Aix Marseille (Examineur)

M. Jean-Jacques Brun

Directeur de recherche, Irstea de Grenoble (Directeur de thèse)

M. Lauric Cécillon

Chargé de recherche, Irstea de Grenoble (Encadrant de thèse)

M. Alexandre Buttler

Professeur, EPFL Lausanne, Suisse (Membre invité)



Remerciements

Cette thèse a été avant tout une épreuve personnelle, un défi que je m'étais lancé. Je dois avouer que je suis très heureux aujourd'hui de constater le chemin accompli. Quel plaisir de contempler tous ces efforts réunis au sein de mon manuscrit de thèse... Bien sûr ça n'a pas toujours été facile et si toi, thésard, tu as l'occasion de lire ces remerciements, dis toi que, toi aussi, tu finiras, par écrire cette page de remerciement qui résonne comme la douce mélodie d'un générique de fin d'un film d'aventure ! Ce film d'aventure, n'aurait pas été réalisable sans de nombreuses personnes et je tiens à les remercier grandement.

En premier lieu, j'aimerais remercier le laboratoire Irstea de Grenoble qui m'a permis de réaliser ma thèse dans de très bonnes conditions. Les conditions de vies à Irstea sont exemplaires et les possibilités de formations ont été très précieuses pour moi. Un grand merci pour les cours d'anglais dispensés au laboratoire qui m'ont été très utiles ;-). J'aimerais également remercier l'école doctorale EDISCE. Je les remercie pour m'avoir attribué ma bourse ministérielle permettant de financer ma thèse. Je tiens également à remercier cette école doctorale pour son fonctionnement efficace. Toutes mes questions ont trouvé réponse rapidement. Caroline Zala est par ailleurs très disponible, efficace et souriante, merci pour votre aide. Je remercie également tout les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse.

Je tiens à remercier particulièrement mon directeur de Thèse Jean-Jacques Brun. Merci Jean-Jacques pour toute ta confiance, ton optimisme constant et ta grande humanité. Il a été très appréciable de savoir que j'avais un soutien constant de ta part lors de ma thèse. Merci ;-)

Un très grand merci à mon encadrant de thèse Lauric Cécillon. Ah, mon cher Lauric, on formait une bonne équipe quand même ! Même si la gestion de fin de thèse a été un peu plus délicate, cela n'efface en rien ton énorme travail d'encadrant. Cette thèse n'aurait jamais vue le jour sous cette forme sans toi, merci ! J'admire ta très grande qualité scientifique et j'ai également fortement apprécié notre très grande affinité en dehors du cadre scientifique (Vienne, Lausanne, Vercors...). Merci pour tout !!!

Un merci tout particulier à Sébastien de Danieli, assistant ingénieur à Irstea. Merci pour ta grande aide au sein du labo, pour l'organisation du terrain ou même pour la numérisation des spectres RMN ;-). J'ai également beaucoup apprécié ton humour taquin, et ton soutien quotidien. Merci !

Au sein du laboratoire Irstea, j'aimerais remercier de nombreuses personnes. Tout d'abord merci à François Veron notre directeur d'unité qui est toujours là pour rendre service et comprendre les situations des doctorants. Merci à l'ensemble du personnel administratif, Rachel, Séverine, Gwénola. Un merci tout particulier à Catherine Lukie qui m'a toujours aidé

et que je considère comme la véritable fée du laboratoire ! Merci à Emilie pour son aide bibliographique et sa bonne humeur ;-) Merci à l'ensemble de l'équipe EMGR et plus spécifiquement à l'équipe Biodiv4D (Thomas Spiegelberger, Stéphanie Gaucherand, Vincent Breton...). Un merci particulier aux personnes avec qui j'ai eu une affinité particulière : Georges Kunstler, Thomas Cordonnier, Thomas Goitré, Marc Fuhr, Philippe Janssen, Sophie Labonne, Pascal Tardif, Antoine Tabourdeau, Dominik Cremer-Schulte, Valentine Lafond, Renaud Jaunatre, Simon Carladous, Freddy Rey, Fanny Domanget, Amandine Erktan... et tous ceux que j'oublie sûrement ;-)

J'ai eu l'honneur d'encadrer deux stagiaires durant ma thèse. Dans les deux cas ce fut une très bonne expérience et j'espère que le petit bout de chemin qu'ils ont parcourus avec moi leur est bénéfique pour la suite. Un grand merci à Quentin Guignard pour son aide estivale sur le terrain et lors de la numérisation des spectres. Je garde de très bons souvenirs de notre escapade à Lausanne ;-). Un grand merci également à Thomas Rolland pour son aide précieuse lors du fractionnement des échantillons de sols...

Durant cette thèse j'ai eu l'occasion de travailler dans de nombreux laboratoires. En tout premier lieu j'aimerais remercier le laboratoire EPFL ECOS dirigé par Alexandre Buttler. Un énorme merci pour cette très bonne collaboration. J'ai été très heureux de pouvoir travailler sur cette très belle expérimentation mise en place par votre laboratoire et je vous en remercie grandement. Un merci tout particulier à Alexandre Buttler, Bjorn Robroek, Robert Mills, Konstantin Gavazov, Vincent Jassey. Merci pour votre aide très précieuse et votre grande gentillesse et bonne humeur.
ISTerre : Delphine Tisserand pour ton aide avec le DOC, Benjamin pour le foot ;-)

LECA : Bello Mouhamadou, Johan pour sa collaboration, Fred et Christophe pour leurs aides, Jean Christophe Clément, Philippe Choler, Christian Miguel...
IPAG: Eric Quirico, Laurene Flandinet pour la mise en place de notre nouveau protocole. Même si je n'ai pas pu aller au bout de cette expérimentation, j'ai appris beaucoup lors de cette expérimentation.
EDYTEM : Yves Perettes, merci pour ton accueil !

Je tiens à Remercier tout particulièrement Anne-Lena Wahl et Thomas Bourdier, mes deux collègues de bureau qui sont devenu de grands amis maintenant. L'ambiance au bureau a été exceptionnelle, tout au long de ma thèse ça toujours été un grand moment de joie de franchir la porte du bureau pour vous dire bonjour ;-). Franchement on s'est bien marré, avec notre hymne du bureau « le coq est mort » en passant par nos jetés de ballons géants (attention Anne a ne pas le jeter trop fort ;-), à notre concours de plantes ou notre jeu d'épendorfs (je sais...je sais... Thomas, tu détient le record mondial ;-)). Merci pour tous les bons moments partagés !!! Bon, Guigui

(Guillaume Lagarrigues), tu ne fais pas parti du bureau mais c'est quasiment pareil... Merci pour ton humour ! Vive le rugby et l'Ariège ;-)

Je tiens à remercier l'ensemble de mes amis pour leurs soutiens tout au long de cette thèse en particulier à un moment de ma vie privé qui a été particulièrement difficile pour moi. Merci vraiment de votre soutien j'en avais besoin et vous avez assurés! Merci à Hicham, Manu, Cyril, Johan, Renaud, Quentin, Marie, Sébastien...

Un merci tout spécial à ma petite Candice, qui m'a rencontré dans un moment délicat, qui a su apaiser mes cicatrices avec patience et douceur, qui m'a toujours soutenu et qui me rend heureux dès que je croise son regard. Merci d'être à mes cotés !

Enfin, je souhaiterais remercier ma famille qui compte tellement pour moi. Merci à mes parents qui m'ont toujours laissé la liberté de faire ce que je voulais faire. Plus je grandis et plus je m'aperçois à quel points vous êtes géniaux ;-) Aude, Michaël et Lorine merci pour les liens très forts que l'on entretient. Ces liens sont plus que précieux pour moi ! Merci à Laurent et à Josquin également d'avoir aussi bien intégré la famille ;-). Josquin tu as été d'une grande aide pendant ma thèse et je ne détaillerai pas l'ensemble des bonnes choses que je pense de toi mais si une personne doit vivre à crédit par rapport à toi... je pense que c'est bien moi ☺ ! Ah et bien sûr je n'oublie pas la petite Thalía qui est née lorsque je finissais ma thèse. Bon, c'est vrai que ça serait mentir de dire que tu m'as aidé à préparer mon oral de thèse... mais sache que je suis terriblement heureux de te voir rentrer dans la famille et on ne sait jamais, peut être qu'un jour tu feras toi aussi une thèse ;-).

INTRODUCTION GENERALE	11
I. LA COMPLEXITE DU MILIEU SOL ET SON ROLE DANS LA REGULATION DU CLIMAT	12
1. LE SOL, UN MATERIEL EXTREMEMENT HETEROGENE.....	12
1.1. Les constituants du sol et leurs fonctions.....	14
1.2. La vie du sol : les acteurs de la décomposition.....	16
2. SERVICES ECOSYSTEMIQUES DU SOL	20
3. REGULATION DU CLIMAT PAR LES SOLS	22
II. DYNAMIQUE DU C ORGANIQUE DANS LES SOLS	27
1. PRINCIPALES ENTREES ET SORTIES DE C ORGANIQUE DU SOL.....	27
2. LES MATIERES ORGANIQUES DU SOL ET LEURS EVOLUTIONS : UNE NOUVELLE VISION	29
3. MECANISMES QUI CONTROLENT LE TEMPS DE RESIDENCE DU C ORGANIQUE DANS LES SOLS	32
3.1. Mécanismes de protection de la MOS menant à sa non dégradation	32
4. FACTEURS REGULANT L'ACTIVITE MICROBIENNE DE DECOMPOSITION DE LA MOS	40
4.1. Les communautés microbiennes excrètent les enzymes du sol.....	40
4.2. La probabilité de rencontre entre les agents de décomposition (enzymes) et leurs substrats dépend des conditions climatiques.....	41
5. BILAN DES EFFETS POSSIBLES DU CLIMAT SUR LA DYNAMIQUE DE DECOMPOSITION DU C ORGANIQUE.....	44
III. CHANGEMENTS CLIMATIQUES, INCERTITUDES LIEES A L'EVOLUTION DES STOCKS DE C ORGANIQUE DES SOLS, CAS DES PRAIRIES SUBALPINES.....	46
1. LES CHANGEMENTS CLIMATIQUES ACTUELS ET PREVUS.....	46
2. PARTICULARITE DU CLIMAT DES MONTAGNES ALPINES ET JURASSIENNES, CAS DES PRAIRIES SUBALPINES ET STOCK DE C	49
2.1. Particularité du climat montagnard.....	49
2.2. Les stocks de C organique des sols de montagne et leur stabilité	52
IV. COMMENT SIMULER UN CHANGEMENT CLIMATIQUE DU SOL ?	53
1. QUELLES SONT LES METHODES POUR REPRODUIRE L'HETEROGENEITE DU CLIMAT ?	53
1.1. Approches en laboratoire	55
1.2. Expérimentations in situ.....	56
2. DISPOSITIF DE SIMULATION CLIMATIQUE UTILISE DANS CETTE THESE	60
2.1. Contexte de l'étude	60
2.2. Détails de la transplantation altitudinale de sols.....	61
2.3. Campagnes d'échantillonnages menées au cours de cette thèse	64
V. OBJECTIFS DE CETTE THESE	68
VI. HYPOTHESES DE CETTE THESE	69
CHAPITRE 1 : EFFETS DES CONDITIONS CLIMATIQUES SUR L'ACTIVITE MICROBIENNE DE DECOMPOSITION DE LA MATIERE ORGANIQUE DU SOL EN PRAIRIE SUBALPINE	71
I. INTRODUCTION.....	72
II. LES ENZYMES DU SOL : CATALYSEURS DE LA DECOMPOSITION DE LA MOS.....	74
1. LES ENZYMES DU SOL : UNE RECHERCHE EN PLEIN ESSOR	74
2. UNE GRANDE VARIETE D'EE DU SOL POUR SATISFAIRE LA COMPLEXITE DE LA MOS.....	75
3. ORIGINES ET LOCALISATIONS DES EE DANS LE SOL.....	77
4. PRINCIPE DES METHODES DE DETERMINATION DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DU SOL	79
5. CONDITIONS NECESSAIRES A DES MESURES FIABLES DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DU SOL.....	81
6. LES MESURES DES ACTIVITES ENZYMATIQUES EN LABORATOIRE : DES ACTIVITES POTENTIELLES	82
III. CONTRIBUTION SCIENTIFIQUE	83
IV. PRINCIPAUX RESULTATS.....	119
V. DISCUSSION	121
1. UNE DYNAMIQUE MICROBIENNE SAISONNIERE TRES PRONONCEE	121

2.	UN EFFET SIGNIFICATIF DE LA MANIPULATION CLIMATIQUE SUR L'ABONDANCE ET L'ACTIVITE MICROBIENNE DU SOL	124
3.	LIMITES DE L'ETUDE ET PERSPECTIVES	126
4.	CONCLUSION	128
CHAPITRE 2 : DYNAMIQUE DES POOLS DE C ORGANIQUE DU SOL ET CLIMAT		131
I.	INTRODUCTION	132
II.	METHODES D'ETUDES DES MOS	134
1.	POOLS DE MATIERES ORGANIQUES DU SOL	134
1.1.	<i>Définition</i>	<i>134</i>
2.1.	<i>Fractionnement physique de la MOS</i>	<i>135</i>
1.1.	<i>Fractionnement chimique de la MOS et combinaison de fractionnements physico-chimiques ..</i>	<i>140</i>
2.	METHODOLOGIE POUR ETUDIER LA CHIMIE DE LA MOS	142
2.1.	<i>Spectroscopie Infrarouge</i>	<i>143</i>
III.	CONTRIBUTION SCIENTIFIQUE	146
IV.	PRINCIPAUX RESULTATS	182
V.	DISCUSSION DES RESULTATS	185
1.	UN SOL DE MONTAGNE CARACTERISE PAR SA RICHESSE EN C ORGANIQUE STABLE (MAOM)	185
2.	UNE DYNAMIQUE SAISONNIERE MARQUEE DES POOLS DE C ORGANIQUE LES PLUS LABILES	186
3.	UN FORT EFFET DE LA MANIPULATION CLIMATIQUE SUR LE CARBONE ORGANIQUE STABLE DU SOL	189
4.	LIMITES ET PERSPECTIVES DE L'ETUDE	192
5.	CONCLUSION	196
CHAPITRE 3 : APPROCHE INTEGREE POUR EVALUER LES EFFETS DES CONDITIONS CLIMATIQUES SUR LA DYNAMIQUE DE DECOMPOSITION ET LES STOCKS DE C		199
I.	INTRODUCTION	200
II.	PREMIERE PARTIE : EFFETS DES CONDITIONS CLIMATIQUES SUR LES INTERACTIONS ENTRE LES COMMUNAUTES MICROBIENNES ET LEURS RESSOURCES ENERGETIQUES (OM)	202
1.	CONTRIBUTION SCIENTIFIQUE	202
2.	RESULTATS COMPLEMENTAIRES SUR LES INTERACTIONS COMMUNAUTES MICROBIENNES/RESSOURCES AU SEIN DE L'EXPERIMENTATION DE CHANGEMENT CLIMATIQUE	217
2.1.	<i>Introduction</i>	<i>217</i>
2.2.	<i>Méthodes statistiques utilisées</i>	<i>217</i>
2.3.	<i>Résultats</i>	<i>218</i>
3.	PRINCIPAUX RESULTATS DE LA PREMIERE PARTIE	223
4.	DISCUSSION DE LA PREMIERE PARTIE	225
4.1.	<i>Saison hivernale et estivale : des fonctionnements drastiquement différents</i>	<i>225</i>
4.2.	<i>Comment expliquer la forte variabilité intra-annuelle des activités enzymatiques</i>	<i>227</i>
4.3.	<i>Limites et perspectives de l'étude des liens ressource/microorganismes</i>	<i>229</i>
4.4.	<i>Conclusion</i>	<i>230</i>
III.	DEUXIEME PARTIE : EFFETS DE 5 ANS DE MANIPULATION CLIMATIQUE SUR LES STOCKS DE C DES SOLS ET LES STOCKS DE MATIERE ORGANIQUE DE LA VEGETATION	231
1.	INTRODUCTION	231
2.	MATERIEL ET METHODES	231
2.1.	<i>Echantillonnage et mesures physico-chimiques</i>	<i>231</i>
2.2.	<i>Analyses statistiques</i>	<i>233</i>
2.3.	<i>Résultats</i>	<i>235</i>
3.	DISCUSSION	238
4.	CONCLUSION	240
CONCLUSION GENERALE		243
I.	PRINCIPAUX APPORTS DE CETTE THESE SUR NOTRE COMPREHENSION DES RELATIONS ENTRE CONDITIONS CLIMATIQUES ET DYNAMIQUE DU CARBONE ORGANIQUE DES SOLS	245

II.	DYNAMIQUE DU COS DU SOL SOUS L'EFFET DE L'EXPERIMENTATION CLIMATIQUE.....	250
ANNEXE1 : BASE DE DONNEES MONDIALE DES SPECTRES DE RESONNANCES MAGNETIQUES NUCLEAIRES DU CARBONE (RMN ¹³ C) DES MATIERES ORGANIQUES DU SOL.....		
I.	PRESENTATION DE LA TECHNIQUE DE RMN DU CARBONE 13.....	260
II.	MISE EN PLACE D'UNE BASE DE DONNEES MONDIALE SUR LES DONNEES DE RMN DU ¹³ C.....	261
III.	COLLECTE DES SPECTRES DE 13C RMN AINSI QUE DE LEURS METADONNEES ASSOCIEES	264
ANNEXE 2 : ARTICLES PUBLIES COMME CO-AUTEUR		
I.	EFFECTS OF TWO GRASS SPECIES ON THE COMPOSITION OF SOIL FUNGAL COMMUNITIES	268
	ABSTRACT	268
II.	LANDSCAPE-SCALE DISTRIBUTION PATTERNS OF EARTHWORMS INFERRED FROM SOIL DNA.....	269
III.	PEATLAND VASCULAR PLANT FUNCTIONAL TYPES AFFECT METHANE DYNAMICS BY ALTERING MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURE	270
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES DU DOCUMENT DE THESE.....		
		271

Introduction Générale

I. La complexité du milieu sol et son rôle dans la régulation du climat

1. Le sol, un matériel extrêmement hétérogène

"Soil is the most complicated biomaterial on the planet" (Young and Crawford, 2004)

Cette phrase publiée par Young et Crawford en 2004 dans le journal Science, illustre bien l'ampleur de la complexité du sol. Loin d'être l'image retranscrite par le sens commun où le sol est souvent pensé comme simple surface sur laquelle on marche, cultive ou construit. Le sol est en fait un matériel complexe et vivant. Le sol est en effet le produit final, résultat de nombreux processus impliquant des interactions complexes entre le matériel parental, la topographie, les organismes vivant et le climat (Jenny, 1994). Ces processus rassemblés sous le nom de pédogénèse interagissent à des échelles spatio-temporelles extrêmement variées et permettent la rencontre entre le monde minéral et le monde organique. D'un côté, le climat, le temps et les organismes vivants altèrent la roche mère et libèrent les minéraux dans le milieu. De l'autre côté, les constituants organiques inertes en cours de décomposition (détritiques de végétation majoritairement) se lient et se mélangent aux minéraux. En se mélangeant et s'associant intimement, le monde minéral et le monde organique créent au sein du sol une multitude de niches écologiques occupées par les multiples formes de vie du sol. Les interactions complexes qui s'établissent entre les constituants, les solutions, les atmosphères et les organismes vivants du sol définissent les nombreuses fonctions et services du sol. Situé à l'interface entre atmosphère, lithosphère, hydrosphère et biosphère, le sol est ainsi défini comme un « carrefour multifonctionnel » (Gobat et al., 2010). Pour étudier et comprendre les processus qui régulent son fonctionnement, il est crucial de se représenter l'image complexe de ce milieu si particulier. Une image qu'il faut considérer de l'échelle nanométrique (feuillet d'argile) à l'échelle des millions de km² (biome) en passant par l'échelle millimétrique (agrégat) ou l'échelle métrique (interactions plante-sol) par exemple (Fig.1). Le sol est ainsi organisé de manière multi-scalaire (Beare et al., 1995 ; Gobat et al., 2010). Il en va de même pour l'échelle de temps, avec des processus quasi-instantanés (échanges ioniques dans la rhizosphère, zone du sol sous l'influence des racines ; Hinsinger et al., 2009), d'autres prenant des milliers d'années (évolution des biomes et pédogénèse) en passant par la journée (activité microbienne) ou la saison (recharge de la réserve utile en eau du sol). Ainsi, il est donc

difficile de couvrir, dans un seul travail, les quatre dimensions spatio-temporelles du fonctionnement des sols.

Cette thèse concerne l'étude de processus concourant à la minéralisation des matières organiques du sol (MOS). Ces processus montrent une dynamique spatio-temporelle multiple et complexe (Schmidt et al., 2011). Ils se déroulent principalement à l'échelle spatiale nanométrique ou millimétrique (organismes décomposeurs et leur habitat), mais peuvent trouver des déterminants spatiaux à l'échelle métrique (végétation), paysagère (géologie, topographie, type de sols) et jusqu'à celle du biome (climat). Par ailleurs, la temporalité de la minéralisation des MOS peut varier de la seconde au millénaire (Schmidt et al., 2011). Dans ce manuscrit les processus liés à la dynamique des MOS sont étudiés à une échelle spatiale allant du μm au m au sein de l'horizon de surface du sol (0-10 cm), et leur variabilité temporelle est étudiée de manière saisonnière à (pluri-)annuelle.

L'horizon superficiel du sol, appelé horizon A, correspond à la couche contenant en mélange des matières organiques et des matières minérales, situés à la base des horizons holorganiques lorsqu'ils existent (Association française du sol, 2008). Cet horizon est ainsi au centre des interactions entre le monde vivant et le monde minéral. La biocénose aérienne (litière intacte, fragmentée et humifiée) rencontre les horizons minéraux provenant de l'altération de la roche mère (Girard et al., 2011). Pour comprendre le fonctionnement de cet horizon du sol, il est important d'en présenter les différents constituants du sol et leurs rôles dans son fonctionnement.

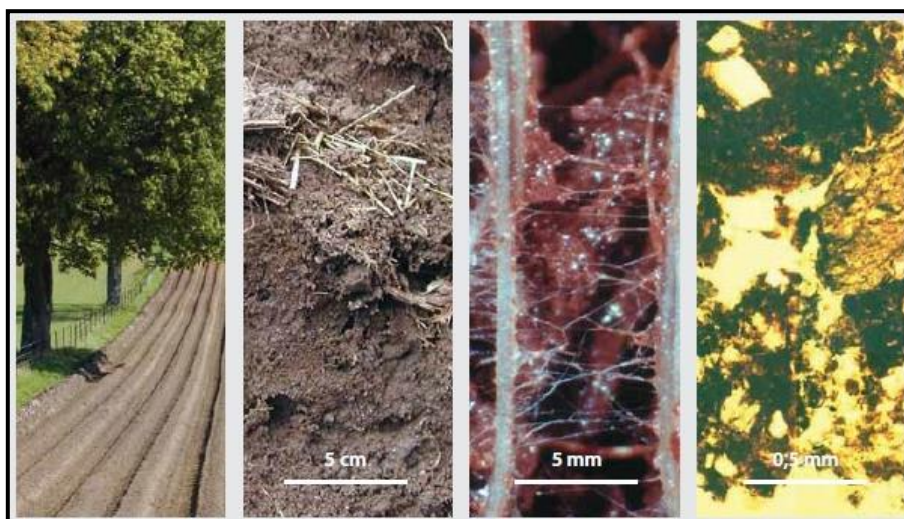


Figure 1: Différentes échelles spatiales au sein du sol. Les processus sont différents à chaque échelle mais le fonctionnement du sol résulte de l'emboîtement de ces différentes échelles. De gauche à droite : Champ labouré, Horizon A d'un sol, racines fines associées à des champignons mycorhiziens, atmosphère du sol en jaune entre des agrégats. (Jeffery et al., 2010)

1.1. Les constituants du sol et leurs fonctions

L'ossature du sol est assurée par les constituants inertes du sol (minéraux et matière organique) (Gobat et al., 2010). Les minéraux du sol sont issus de l'altération de la roche mère. Ils sont non ou peu altérés, et appelés dans ce cas minéraux primaires (e.g. quartz, feldspaths, micas). Ces minéraux subissent des transformations menant à la formation de minéraux secondaires (oxydes, argiles) qui peuvent également être d'origine néoformée (Velde et Barré, 2009). En raison de leur grande surface spécifique, les minéraux argileux, notamment, interagissent fortement avec la matière organique du sol (Feller et Chenu, 2012). La nature de la roche mère influence fortement les processus à l'œuvre dans le sol. En effet, en fonction de la nature des minéraux libérés (siliceux ou carbonatés par exemple), le pH du sol variera d'acide à alcalin. Ainsi, les caractéristiques de la roche mère et son degré d'altération déterminent l'ambiance physico-chimique du sol (Gobat et al., 2010). Le degré d'évolution de la pédogénèse va modifier cette ambiance physico-chimique. Par exemple, le processus de décarbonatation abaisse significativement le pH des horizons de surface du sol, transformant les Calcosols en Calcisols avec passage d'une séquence d'horizons de référence Aca/Sca à une séquence Aci/Sci ; Association française du sol, 2008). La pédogénèse et l'ambiance physico-chimique du sol influencent un grand nombre de processus dans le sol (Duchaufour, 1997 ; Girard et al., 2011). La composition des communautés microbiennes est ainsi fortement influencée par les caractéristiques des sols (Dequiedt et al., 2011), tout comme la productivité primaire (Davet, 1996 ; Gobat et al., 2010). Il en résulte une forte dépendance des mécanismes et processus qui régulent la dynamique du C suivant les types de sol (Batjes, 1996 ; Girard et al., 2011).

Les constituants organiques inertes correspondent à l'ensemble de la nécromasse en cours de décomposition. Il s'agit principalement des détritiques de plantes (racines et parties aériennes), des exsudats racinaires, mais aussi de biopolymères issus du catabolisme des constituants organiques des organismes du sol. La MOS (cf. section II.2 de l'introduction générale), est fragmentée, mélangée, décomposée et néo-synthétisée par la faune du sol. La dégradation de la matière organique et l'altération des minéraux génèrent deux entités réactives qui vont se lier finement les unes aux autres et vont former ainsi un nouvel ensemble. Cet ensemble, appelé autrefois complexe argilo-humique et interactions bio-organo-argileuses aujourd'hui (Feller et Chenu, 2012), que l'on peut étendre à l'ensemble des relations organo-minérales (e.g. interactions de la matière organique avec les oxydes de fer ou

carbonates) confère au sol des propriétés dépassant le simple ajout des propriétés intrinsèques des minéraux ou des molécules organiques (taille, réactivité). C'est par exemple le cas de la formation de la structure du sol (processus d'agrégation, contrôlant l'arrangement hétérogène des solides et des vides dans le sol), en interaction avec les racines des plantes et les organismes du sol (Anger et Caron, 1998 ; Six et al., 2004 ; Bronick et Lal, 2005). La pédologie reconnaît différentes structures au sein des horizons organo-minéraux (massive, particulaire, lamellaire, prismatique, polyédrique anguleuse ou subanguleuse, soufflée, grenue ou grumeleuse), qui définissent des classes d'habitat contrastés pour les organismes du sol. En définissant l'habitats microbien, il a été montré que la structure du sol modifie l'activité et la composition des communautés microbiennes du sol (Johnson et al., 2003).

L'ossature solide du sol définit les différents habitats du réseau trophique du sol (microorganismes et faune du sol) en régulant la diffusion des matières (nutriments et enzymes), des êtres vivants, des gaz et de la solution du sol.

A travers cette ossature solide, l'eau et l'atmosphère du sol sont des vecteurs essentiels. La solution du sol assure la nutrition des plantes, les échanges nutritifs et le transport des microorganismes. Sa teneur en ions et son pH régulent la présence des espèces microbiennes. La solution du sol est extrêmement dynamique (évapotranspiration, précipitation, remontées capillaires). Dans cette solution les matières organiques et minérales dissoutes ou en suspension représentent la ressource directement assimilable par les microorganismes (Conant et al., 2011) et par les racines des plantes (Hinsinger et al., 2009). Cette fraction est souvent négligée mais peut atteindre des proportions élevées dans certains sols ou à certaines périodes de l'année. L'atmosphère du sol est une véritable interface permettant les échanges gazeux entre l'atmosphère et les organismes vivants. Elle véhicule l'oxygène à travers le réseau poral du sol et permet de libérer les déchets du métabolisme microbien (e.g. CO₂, H₂O, NH₃, NO₃). Pour les Eucaryotes et la grande majorité de procaryotes, cet oxygène est indispensable à leur survie (respiration). Sa présence est également indispensable pour les réactions d'oxydo-réduction (décomposition des polymères phénoliques).

1.2. La vie du sol : les acteurs de la décomposition

La faune du sol

Cette diversité d'environnements crée une multitude de niches écologiques (habitats) occupées par les organismes du sol, organisés en un véritable réseau trophique hétérotrophe, dont la ressource énergétique originelle est la MOS (Linderman, 1942). Les êtres vivants du sol sont composés de la microflore (microorganismes) et de la faune. Cette dernière permet la fragmentation et le brassage des MOS tandis que les microorganismes assurent la dégradation/minéralisation des MO du sol. Outre le cycle du C, la vie du sol régule ainsi le recyclage et la disponibilité des nutriments (N, P) nécessaires à la croissance des plantes (Gobat et al., 2010).

La faune du sol est couramment classée suivant la taille des organismes. Ainsi, on retrouve (Lavelle et Spain, 2001) :

- La mégafaune d'une taille supérieure à 80 mm (mammifères, reptiles)
- La macrofaune comprise entre 4 et 80 mm (Gastéropodes, Annélides, insectes, etc.)
- La mésofaune comprise entre 0.2 et 4 mm (Collemboles, Acariens, etc.)
- La microfaune inférieure à 0.2 mm (Nématodes, Amibes, Rotifères, Tardigrades, etc.)

Leur abondance est estimée en moyenne à 150 g d'animaux dans 1 m² de sol prairial soit environ 260 millions d'individus (Gobat et al., 2010). Ils interviennent dans la fragmentation de la matière organique ce qui a pour conséquence d'augmenter la surface de contact entre MOS et microorganismes. Leur rôle est également déterminant dans la dissémination des microorganismes au sein de la matrice sol. Certains organismes de la faune du sol (comme les lombriciens) modifient également le sol en tant qu'habitat pour d'autres espèces par leur activité de bioturbation (organismes ingénieurs ; Jones et al., 1994 ; Lavelle et al., 1997). Ils interviennent également fortement dans la formation de micro-agrégats où se forment d'importantes interactions bio-organo-minérales protégeant la MOS de la décomposition (Lavelle et Spain, 2001 ; Six et al., 2004 ; Bossuyt et al., 2005).

La faune du sol par son activité de bioturbation, de fragmentation des détritiques et de dissémination des microorganismes assure un rôle crucial et précurseur pour la dynamique de la MOS du sol. De plus, son activité régule la dynamique de formation des micro et macro agrégats du sol essentiels à la stabilisation de la MOS et à la structure du sol.

Les microorganismes du sol

Les microorganismes trouvent leur ressource énergétique dans la MOS. Pour pouvoir assimiler la MOS, ils libèrent des enzymes extracellulaires qui se diffusent à travers le sol et qui assurent la décomposition (dépolymérisation) des macromolécules organiques en monomères assimilables par la communauté microbienne (Burns et al., 2013). Les microorganismes minéralisent ainsi 60 % du C organique (sous forme de CO₂ et CH₄) et en intègrent 40 % sous forme de molécules recyclées (biomasse ou métabolisme comme l'excrétion d'enzymes ; Kemmit et al., 2008). Les microorganismes du sol comportent trois grandes catégories d'organismes : les bactéries, les champignons et les algues. Leur nombre et leur abondance sont colossaux dans le sol. Sous 1 m² de surface de sol, on trouve en moyenne pas moins de 10¹⁴ individus de bactéries, 10⁸ cellules d'algues. Concernant les champignons, ils déploient des hyphes à travers le sol et leur biomasse peut atteindre 250 kg.ha⁻¹ en sol prairial (Bardgett, 2005). Malgré leur extrême abondance, les microorganismes du sol n'occupent que 1% de son volume. Il s'établit en fait des spots de biodiversité et d'abondance microbienne dans le sol (Beare et al., 1995), là où la ressource est accessible aux microorganismes. Cette répartition joue un rôle important dans les processus de dégradation des MOS qui sont localisées dans certains hotspots du sol (Kuzakov et Blagodatskaya, 2015). La rhizosphère est d'ailleurs un milieu très particulier dans le sol où les microorganismes prolifèrent (Hinsinger et al., 2009 ; Lambers et al., 2009). Il s'agit d'une véritable interface entre le monde végétal et microbien. Les exsudats racinaires et les conditions particulières de ce milieu engendrent un développement de communautés microbiennes différentes comparées aux communautés du sol (Davet, 1996 ; Bello et al., 2013). La plupart de ces microorganismes ne sont pas cultivables (99%). De plus, les microorganismes sont capables d'altérer directement la roche mère (Berthelin et al., 1990). Cette altération biologique permet de libérer des minéraux dans le sol qui deviendront nutriments pour la plante (Fig.2).

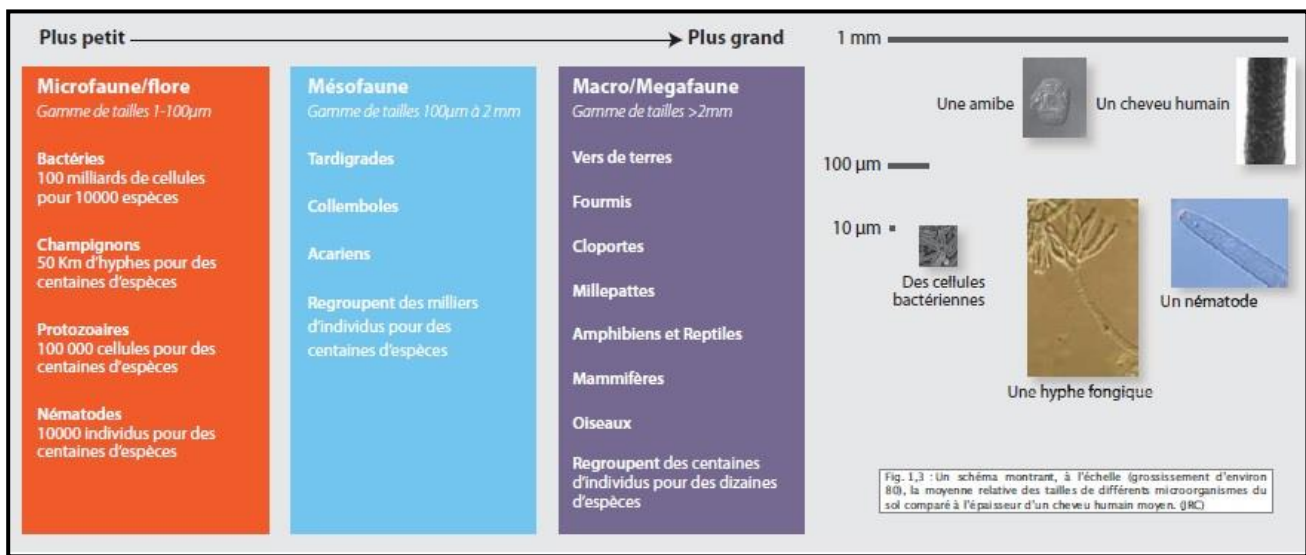


Figure 2 : Les organismes du sol répartis selon leur taille (Jeffery *et al.*, 2010).

Les bactéries occupent des niches écologiques très variées. Leur variabilité spatio-temporelle est très forte. Des bactéries aérobies strictes et anaérobies peuvent être séparées dans le sol par quelques mm seulement (espace intra et inter microagrégats par exemple). De plus, leur dynamique de population les rend aptes à s'adapter très rapidement à de nouvelles conditions. Leur activité est fonction du climat ainsi que de la disponibilité de la ressource (MOS), car les bactéries ont généralement un mode de vie immobile les rendant dépendantes des conditions environnantes.

Les champignons vivent dans des conditions relativement homogènes. Ce sont tous des organismes hétérotrophes vivant en conditions aérobie. Ils dépendent ainsi plutôt des caractéristiques globales du sol plutôt que celles des microenvironnements créés au cœur de la structure du sol. Ils permettent de transporter de grandes quantités d'éléments (azote, potassium, calcium, magnésium) et d'eau à travers le réseau mycélien (Leigh *et al.*, 2008 ; Liu *et al.*, 2002). Les champignons mycorhiziens sont ainsi essentiels à la croissance de nombreuses espèces végétales. Pour accéder aux pools de phosphore du sol, inaccessibles aux plantes, les champignons mycorhiziens seraient capables d'hydrolyser le phosphore organique en phosphore inorganique pour le transférer à la plante hôte (Koide *et Kabir*, 2000). Les champignons seraient également capables d'altérer des ressources minérales et ainsi mettre à disposition des plantes, des éléments minéraux. Le réseau mycélien influence la structure du sol. Il a d'ailleurs été montré que la mort des hyphes libère une glycoprotéine, la glomaline, permettant de structurer le sol (Rillig *et Mummey*, 2006). De plus, l'enchevêtrement des

racines fines et du mycélium fongique joue un rôle physique dans la liaison des micro-agrégats ($<250\mu\text{m}$) entre eux pour former des macro-agrégats ($>250\mu\text{m}$) stables (Six et al., 2004 ; Rillig et Mummey, 2006). Certains champignons sont spécialisés dans la dégradation de la lignine par la diffusion d'enzymes extracellulaires appartenant à la famille des laccases. Cette voie de décomposition les rend essentiels à la décomposition des composés lignifiés. Cependant, de nombreuses interrogations subsistent quant à la réactivité de ces enzymes face aux changements climatiques (Burns et al., 2013).

Les algues tapissent généralement la surface des sols et ont un rôle écologique d'altération des minéraux, de structuration du sol et d'apport de MO (organisme autotrophe ; Gobat et al., 2010).

Les bactéries et les champignons ayant une écologie différente, le ratio de dominance champignons/bactéries est souvent utilisé pour estimer la voie de décomposition dominante des MOS au sein de l'écosystème. Toutefois, les implications fonctionnelles d'un changement du ratio de dominance champignons/bactéries dans les sols sont encore mal connues, notamment en ce qui concerne la dynamique du C dans les sols (Strickland et Rousk, 2010).

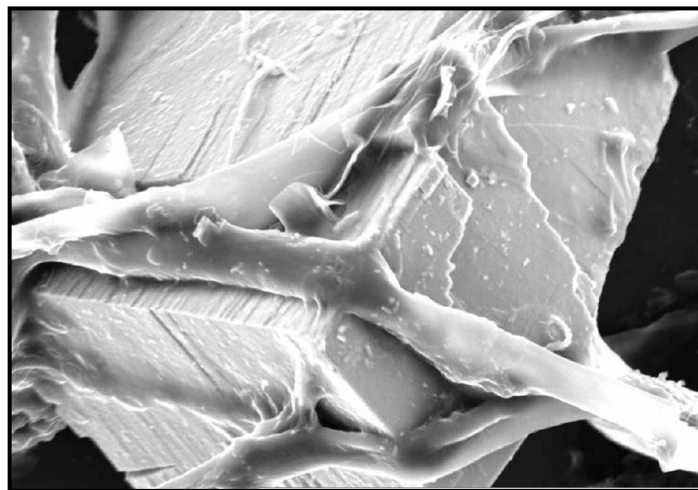


Figure 3 : Altérations d'un cristal de galène par des filaments de champignons (Jeffery *et al.*, 2010).

Les microorganismes du sol sont extrêmement nombreux et diversifiés. Cette diversité répond à la multitude de microenvironnements biogéochimiques du sol ainsi qu'à la complexité des formes des MOS, leur ressource énergétique. Leur répartition dans le sol est très hétérogène et s'explique par la présence de conditions supportant le développement de la vie.

2. Services écosystémiques du sol

Dans les années 90, Costanza et ses collaborateurs ont décrit le sol comme un capital naturel, c'est-à-dire un stock de composants naturels fournissant un flux de biens et de services aux sociétés humaines (Costanza et Daly, 1992 ; Costanza et al., 1997). Le capital naturel sol est défini comme l'ensemble des propriétés non modifiables « inhérent properties » et modifiables « manageable properties » du sol (Dominati et al., 2010). La pierrosité, la profondeur, la teneur en argiles d'un sol sont autant de propriétés non modifiables par l'homme. En revanche, le stock de MOS est une propriété modifiable du sol, par exemple en modifiant le mode d'utilisation ou l'itinéraire technique de gestion du sol (e.g. afforestation, ou amendement organique d'un sol cultivé pauvre en MOS). Ces propriétés génèrent les processus du sol qui définissent le flux de services potentiel qu'un sol peut fournir (Fig.4).

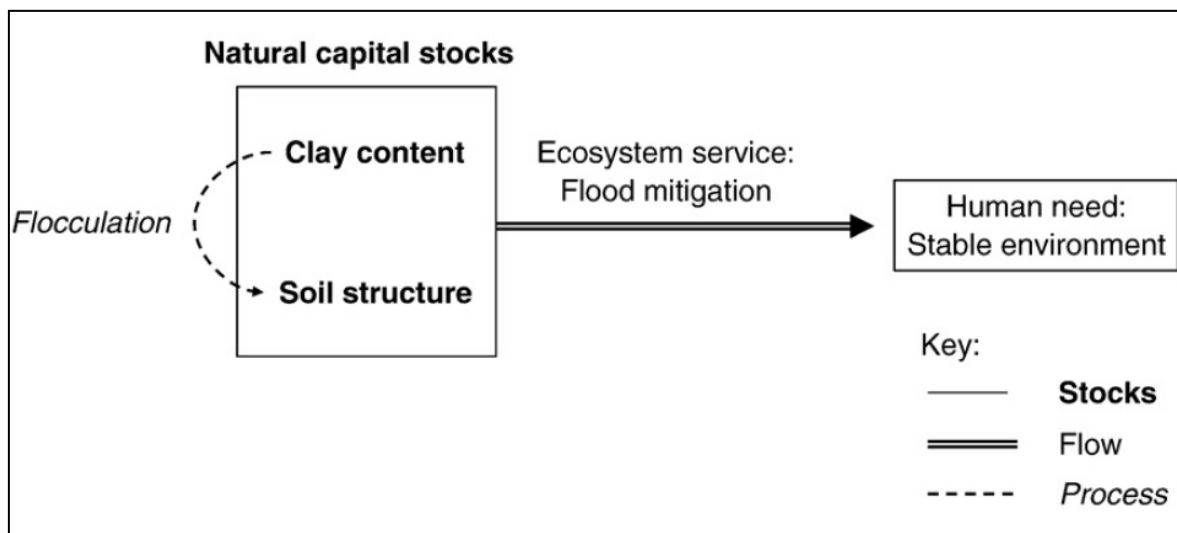


Figure 4 : Le capital naturel du sol génère des processus qui définissent les services écosystémiques potentiels.

Le capital naturel du sol génère des processus qui définissent les services écosystémiques potentiels. Les services écosystémiques du sol peuvent être résumés en quatre grands groupes (Fig.5) :

- Services de régulation (e.g. régulation du climat via l'émission de gaz à effet de serre CO_2 , CH_4 et N_2O , régulation des inondations et de la qualité des eaux)
- Services de soutien (e.g. pédogénèse, production primaire)
- Services d'approvisionnement (e.g. nourriture, eau potable, bois et fibre, matériaux)
- Services culturels (paysage, récréation, spiritualité)

La figure 5 illustre la diversité des services rendus par le sol pour la société humaine. Leur valeur économique a été évaluée à plusieurs milliers d'euros par hectare (MEA, 2005). En affectant les propriétés modifiables du capital naturel sol, les facteurs environnementaux tels que les changements d'utilisation des terres ou les changements climatiques modulent fortement le stock de ce capital naturel et par conséquent le flux de services écosystémiques vers les sociétés humaines qui lui est associé (Dominati et al., 2010). Le stock de MOS est une propriété du sol qui influence la fourniture de nombreux services écosystémiques du sol (Koch et al., 2013). En effet, de nombreux processus du sol comme notamment sa structure (agrégation), sa capacité de rétention en eau, ou d'adsorption des polluants, sa capacité à rendre biodisponible les nutriments dépendent des quantités et de la chimie des MOS présentes (Olk, 2006 ; Watts et Teel, 2006 ; Koelmans et al., 2006 ; Powlson et al., 2011). La protection ou l'amélioration de cette propriété modifiable du sol est donc un enjeu environnemental et économique majeur pour les sociétés humaines.

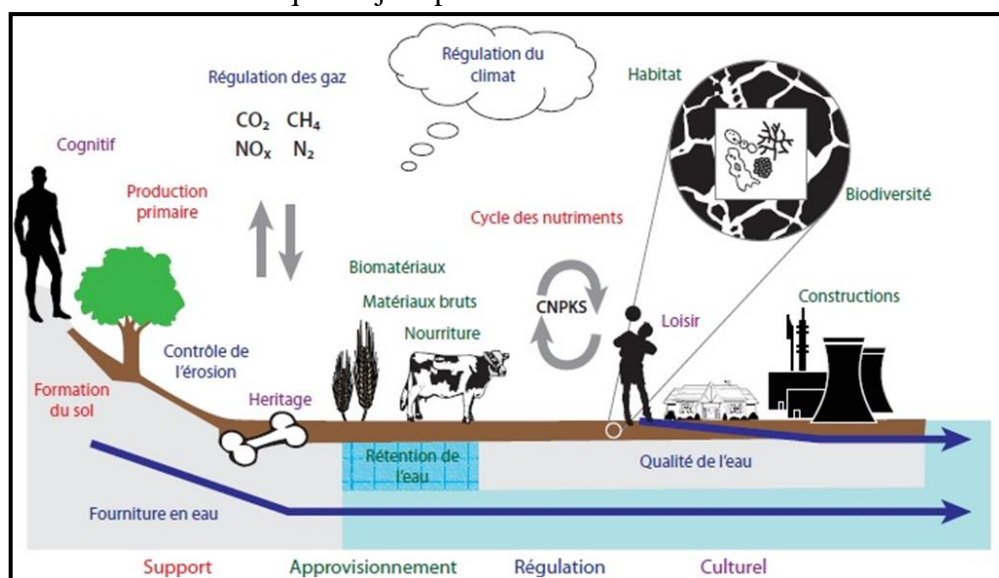


Figure 5 : Principaux services écosystémiques fournis par le sol (Jeffery *et al.*, 2010).

*Le capital naturel sol et sa complexité permettent par le biais des nombreux processus décrits auparavant (décomposition, agrégation, etc.) de fournir de nombreux services et fonctions utiles à l'homme. La majorité des services écosystémiques du sol étant fortement dépendant de leur stock de MOS (propriété modifiable), il est primordial de comprendre les effets des changements environnementaux (climat, occupation des terres) sur la persistance des MOS dans les sols (Schmidt *et al.*, 2011).*

3. Régulation du climat par les sols

Un des services clé rendus par le sol est son rôle dans la régulation du climat (Dominati *et al.*, 2010 ; Koch *et al.*, 2013). L'équilibre du climat planétaire est principalement déterminé par l'effet de serre généré par une série de gaz atmosphériques qui absorbent le rayonnement infrarouge terrestre : les principaux étant l'eau (H₂O), le dioxyde de carbone (CO₂), le méthane (CH₄), et dans une moindre mesure le protoxyde d'azote (N₂O). Depuis l'époque pré-industrielle, la concentration atmosphérique de trois importants gaz à effet de serre (GES ; CO₂, CH₄, N₂O) n'a cessé d'augmenter sous l'effet des activités anthropiques. Ces gaz contribuent à l'augmentation de l'effet de serre planétaire, et par conséquent aux changements climatiques qui en résultent à hauteur de 60 %, 20 % et 6 % respectivement. L'augmentation des GES résulte majoritairement de l'utilisation des énergies fossiles par l'homme. Le C du pool géologique considéré comme un pool passif est ainsi transféré vers l'atmosphère sous forme de CO₂. Sur la période 2002 à 2011, la production de ciment et l'utilisation des énergies fossiles entraîne une libération dans l'atmosphère de 8.3 PgC par an sous forme de GES (IPCC, 2013, Fig 6).

Les prévisions climatiques pour le siècle à venir se basent sur différents scénarios d'émissions de GES. Les deux scénarios sur lesquels s'appuie cette thèse sont le scénario A1B et le scénario A2 (cf. section 4 de l'introduction de ce document de thèse). Le premier (A1B) est une augmentation intermédiaire des concentrations des GES dans l'atmosphère. Il suppose une utilisation de l'énergie fossile mais également de nouvelles énergies non carbonées. Il se base sur une évolution rapide de la société mondiale jusqu'au milieu du 21^{ème} siècle qui déclinerait ensuite. Le scénario A2 correspond à une augmentation intense des concentrations atmosphériques en GES. Il se base sur un monde avec une population en

croissance constante et des développements de nouvelles technologies moins efficaces et rapides que dans les autres scénarios. Il existe de nombreuses incertitudes concernant les quantités de GES qui seront émises dans l'atmosphère. La première concerne l'évolution des sociétés humaines. Ceci englobe, la croissance de la population humaine, sa politique de développement, les changements d'utilisation des terres, etc. Cependant, d'autres incertitudes concernent l'emballlement possible de la machine climatique de la terre sous l'effet de ses interactions avec la biosphère, la lithosphère et l'hydrosphère. Le sol fait partie intégrante de ces grandes incertitudes.

Le sol constitue en effet actuellement un grand réservoir de C continental, stocké sous forme de MOS. La quantité de C organique présente dans le sol est 2 à 3 fois plus importante que celle de l'atmosphère et 4 fois plus importante que celle stockée dans la végétation

(Lal, 2004 ; Fig.6). Il est estimé que les sols contiennent entre 1500 et 2400 PgC, plus 1700 PgC dans le permafrost des hautes latitudes (IPCC, 2013 ; Fig.6). La régulation du climat global de la planète par les sols est très forte. En effet une diminution annuelle globale de seulement 4/1000 des stocks de C organique des sols viendrait doubler les émissions de GES anthropiques mondiales, quand une augmentation globale de 4/1000 par des quantités de C organique stockées dans les sols viendrait compenser les émissions annuelles de GES mondiales (GESSOL, 2015). Le stock de C du sol résulte du régime établi entre les entrées et les sorties de C. Les entrées de C dans le sol sont le résultat de la fixation photosynthétique du CO₂ atmosphérique par la végétation sous forme de MO, qui est ensuite transférée au sol (MOS). Pour la période de 2002 à 2011, le flux net global de C capté par la végétation et le sol est positif avec des valeurs estimées de +2.5 PgC par an (IPCC, 2013 ; Fig.6). Ce flux positif est dû à l'augmentation de la NPP des végétaux essentiellement dans les forêts (Pan et al., 2011). Le C réside dans le sol sous forme de MOS sur des échelles extrêmement variables (de l'heure aux millénaires) selon les mécanismes qui le stabilisent (Schmidt et al., 2011 ; cf. Chapitre MOS). Le C est ensuite restitué à l'atmosphère sous forme de CO₂ ou de CH₄, grâce à la minéralisation microbienne en voie aérobie (oxydation du C) ou anaérobie (réduction du C), respectivement. Le forçage anthropique dû aux changements d'utilisation des terres à l'échelle du globe entraîne la libération nette de 0.9 PgC par an dans l'atmosphère. De manière générale, les sols et la végétation constituent aujourd'hui un puits mondial de C de l'ordre de 1.6 PgC par an (= 2.5 - 0.9). L'exportation du C des sols peut également résulter de l'érosion mais ce processus est très faible dans la plupart des écosystèmes (Girard et al.,

2011). Enfin une partie du carbone peut être solubilisée et contribuer au C dissout des eaux continentales (Girard et al., 2011).

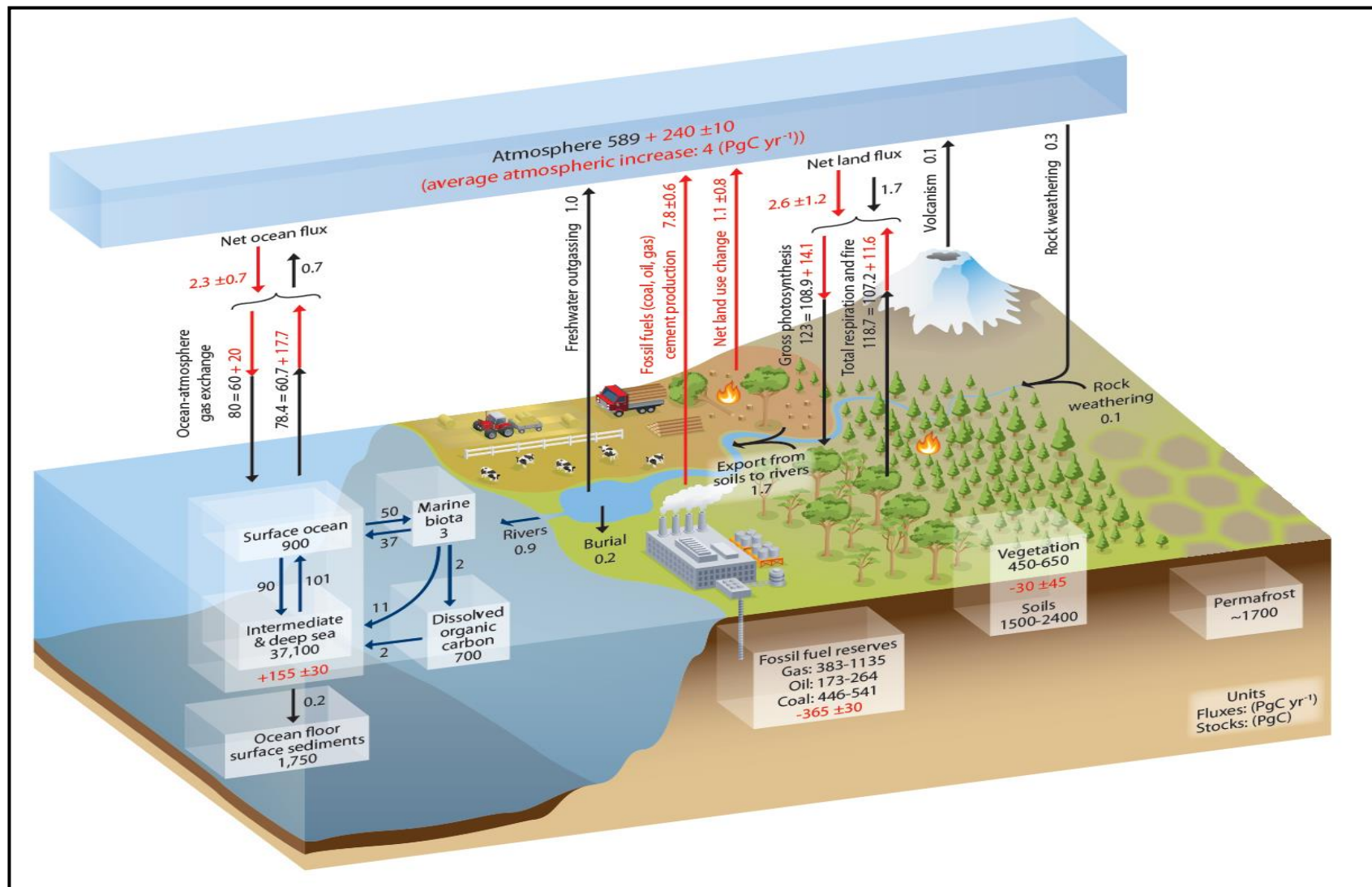


Figure 6 : Cycle global du carbone. Les nombres représentent les stocks de carbone des différents réservoirs en PgC (1PgC=10¹⁵gC) et les flux d'échanges annuels (en PgC yr⁻¹). Les nombres et les flèches noires indiquent les valeurs estimées avant l'époque industrielle (nb forçage anthropiques). En rouge sont indiqués les flux annuels moyennés sur la période 2000-2009. Les nombres rouges dans les réservoirs correspondent à l'accumulation des changements induits par les forçages anthropiques sur la période 1750-2011. (IPCC, 2013)

Le stock de MOS étant une propriété du capital naturel sol susceptible d'être modifiée sur des pas de temps assez courts (décennie), les prédictions actuelles de l'effet des changements globaux sur le stock de C du sol diffèrent grandement en termes d'amplitude mais également en termes de trajectoire sur les 100 années à venir (Friedlingstein et al., 2006 ; Eglin et al., 2010). Quels sont les écosystèmes dont les sols joueront le rôle de puits ou de source de carbone ? Quel sera le bilan global des quantités de carbone séquestrées dans les sols, seront-elles stables, en augmentation ou en diminution ? De nombreuses questions restent sans réponse et l'incertitude demeure quant à l'effet des changements climatiques globaux sur la stabilité de la MOS. Actuellement, les prédictions de l'effet des modifications climatiques sur la manière dont le carbone s'échange entre les écosystèmes terrestres, l'hydrosphère et l'atmosphère, sont entravées par un manque de connaissances mécanistiques des processus menant à la stabilisation et à la déstabilisation de la MOS (Torn et al., 2009 ; Kleber, 2010 ; Schmidt et al., 2011 ; Trumbore et Czimczik, 2008). De plus, la contribution des différents mécanismes de stabilisation de la MOS suivant l'écosystème considéré est aujourd'hui encore inconnue (Mikutta et al., 2006). Ces interrogations concernent particulièrement tous les sols qui présentent un carbone stabilisé par des conditions climatiques particulières (températures froides, hydromorphie). Il s'agit tout particulièrement des sols des régions de haute latitude et altitude comme les sols boréaux, arctiques ou alpins (Fig. 7). La quantité de C stocké dans ces sols est très importante et sa forme de stockage risque d'être très vulnérable aux changements des conditions climatiques (Schuur et al., 2008 ; Sjögersten et al., 2011). Des interrogations existent aussi concernant le pool de carbone stable (temps de résidence supérieur au siècle) de l'ensemble des sols de la planète, qui serait particulièrement sensible aux augmentations de température (Davidson et al., 2006 ; Lefèvre et al., 2014). Les changements climatiques globaux pourraient donc entraîner la levée des mécanismes qui stabilisent de grandes quantités de C organique dans les sols (cf. section II de l'introduction de ce document de thèse). Il est donc urgent de développer nos connaissances sur les effets des conditions climatiques sur les mécanismes régulant les stocks de C des sols. L'accroissement de nos connaissances mécanistiques permettra de mieux paramétrer les modèles de dynamiques du C du sol et ainsi prédire plus précisément le service de régulation du climat des sols.

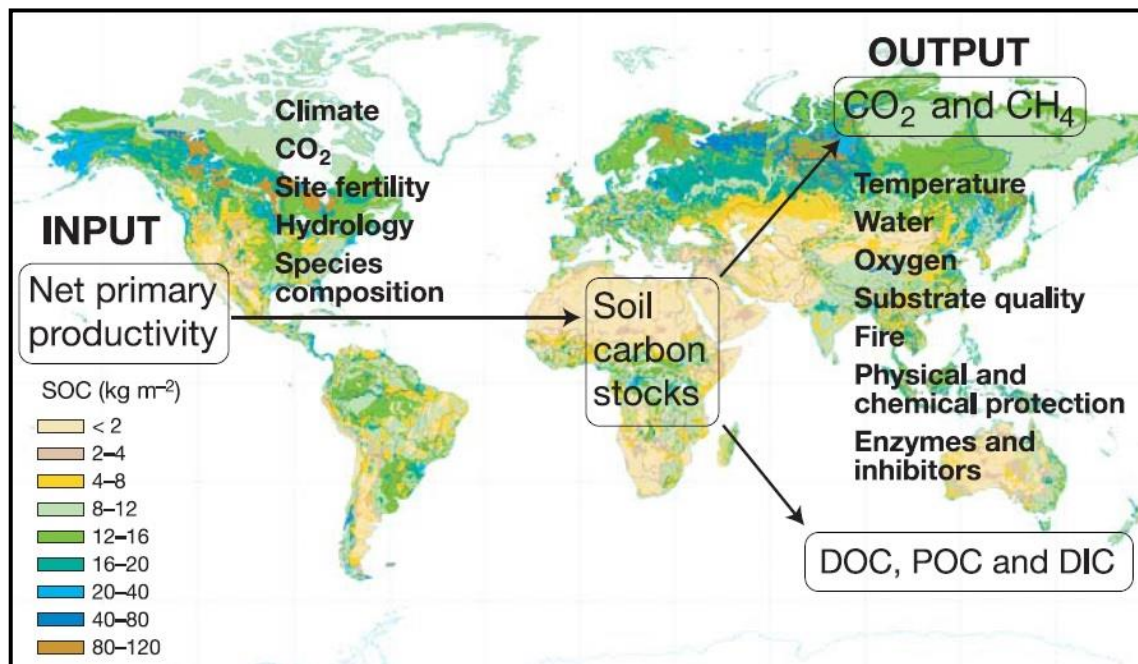


Figure 7 : Stocks de C des sols à l'échelle mondiale et facteurs contrôlant les principales entrées et sorties de C du sol (Davidson et Janssens, 2006).

Le sol constitue un grand réservoir de carbone stocké sous forme de MOS. Les régions aux climats froids stockent les plus grandes quantités de C. Les changements climatiques pourraient fortement altérer ces stocks de C, générant une boucle de rétroaction positive.

II. Dynamique du C organique dans les sols

1. Principales entrées et sorties de C organique du sol

Comme nous l'avons évoqué au chapitre précédent, le sol est un grand réservoir de C stocké sous forme de MOS. La quantité de C stockée dans un sol sous forme de MOS reflète l'équilibre à long terme entre les entrées de MO et les sorties de C (Amundson, 2001). Les processus impliqués dans les flux d'entrée et de sortie de C des sols sont contrôlés par les facteurs de formation des sols définis dès 1941 par Jenny : le climat, la topographie, le matériel parental, les organismes vivants, le temps et les activités humaines (Jenny, 1994 ; Amundson et Jenny, 1997). Dans ce modèle conceptuel (Fig.8), une modification d'un seul de

ces facteurs conduit à une modification de l'équilibre entre entrée et sortie de C du sol, et donc à une modification de la quantité de C stocké dans le sol sous forme de MOS (Amundson, 2001). Environ 100 gigatonnes de biomasse végétale sont produites par an et 90% de cette biomasse échappent aux herbivores et entrent dans le sol en tant que MOS inerte (Bardgett et Wardle, 2010). L'apport de MO au sol peut être aérien par la chute au sol des feuilles ou plantes, de branches, de fruits, d'écorces par exemple. Il est également souterrain par l'apport de C organique issu de la décomposition des racines (Amundson, 2001). En forêt et en prairie il a été montré que l'apport des MO du sol par le compartiment souterrain peut être considérable (Godbold et al., 2006). Il apparaît d'ailleurs que cet apport est le mode majoritaire en prairie (Hitz et al., 2001). De plus, le rôle joué par les champignons mycorhiziens serait important. En effet, Godbold *et al.*, (2006) ont montré que leur taux de renouvellement extrêmement élevé les rendait susceptibles d'être de grandes sources d'apport de C au sol. L'origine aérienne ou souterraine des MOS est importante car elle définit leur interaction avec le compartiment minéral et les communautés microbiennes. Les MO qui entrent directement dans le sol (souterrain) sont plus à même d'interagir et de se complexer avec le compartiment minéral menant ainsi à leur stabilisation (Rasse et al., 2005 ; Kramer et al., 2010). De plus le C issu du compartiment souterrain représente la ressource principale des microorganismes du sol (> 60 %) en forêt tempérée (Kramer et al., 2010). Les sorties de C du sol s'opèrent soit par les processus de la décomposition microbienne avec libération de C sous forme de CO₂, soit sous forme d'érosion des couches superficielles et/ou de composés organique soluble qui contribuent au carbone dissout des eaux continentales (Girard et al., 2010 ; Amundson, 2001). Les mécanismes régulant les sorties de Corg dus à la décomposition microbienne des MOS sont au cœur de cette thèse et sont de ce fait largement détaillés dans la suite de l'introduction de ce manuscrit.

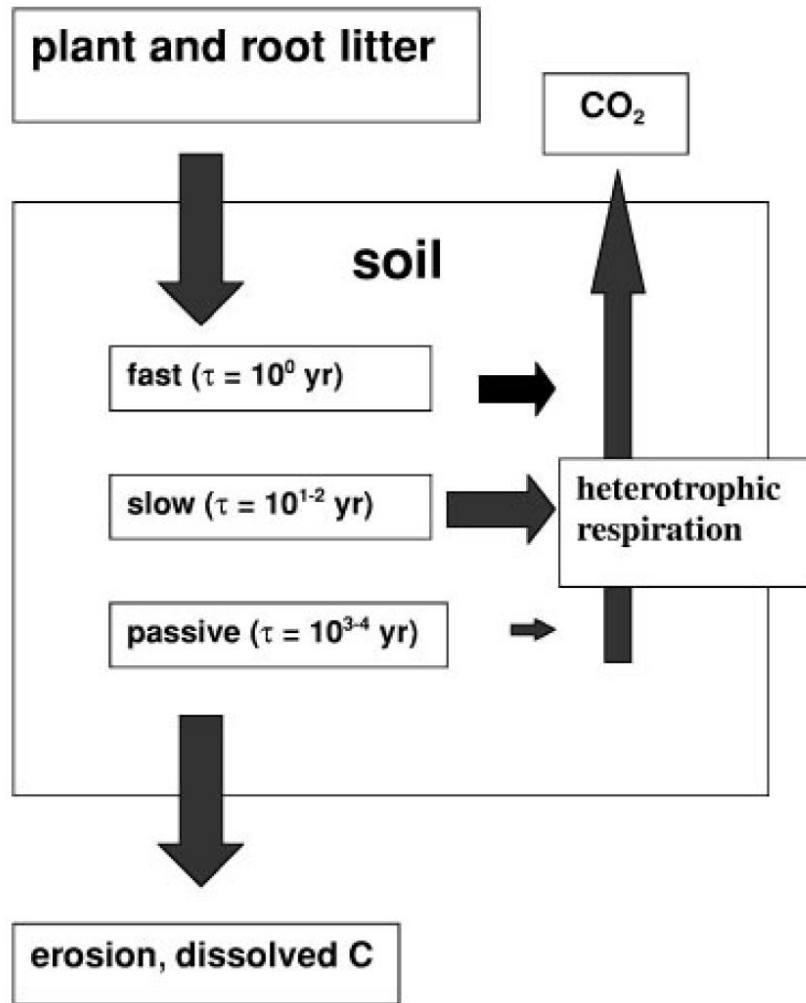


Figure 8 : Représentation schématique des principales entrées et sorties de C du sol (Amundson, 2001). Les flèches noires représentent les différents flux.

2. Les matières organiques du sol et leurs évolutions : une nouvelle vision

La MOS est constituée d'un mélange de molécules organiques plus ou moins décomposées, originaires des différentes voies d'entrée de C du sol décrites plus haut. Cette matière organique englobe l'ensemble de la nécro masse en décomposition (principalement issue des végétaux), des exsudats racinaires, des composés néo-synthétisés par les micro-organismes et la faune du sol, ainsi que des résidus de végétation brûlés (charbons). La faune et la flore du sol font partie de cette MO et sont définis comme la MO vivante du sol.

Les principaux groupes de biopolymères organiques rencontrés dans les sols sont les polysaccharides (cellulose, hémicellulose), la lignine et les polyphénols (composés longtemps considérés comme très récalcitrants), les protéines, les lipides, la cutine et la subérine, les

tannins, les résidus microbiens (sucres aminés) ainsi que les charbons (carbone pyrogénique), caractérisés par une structure moléculaire complexe constituée de noyaux aromatiques condensés (Schmidt et Noack, 2000 ; Gleixner et al., 2001 ; Kögel-Knabner, 2002) (Fig.9). La composition moléculaire des MOS est en moyenne de 50 % de carbone, 40 % d'oxygène, 5 % d'hydrogène, 4 % d'azote et 1 % de soufre (Juarez, 2013). Les MOS du sol, de par leurs composition et leur abondance dans les sols sont de véritables plaques tournantes des cycles des éléments majeurs (C, N, P, Chenu, Webinaire AFES, 2013).

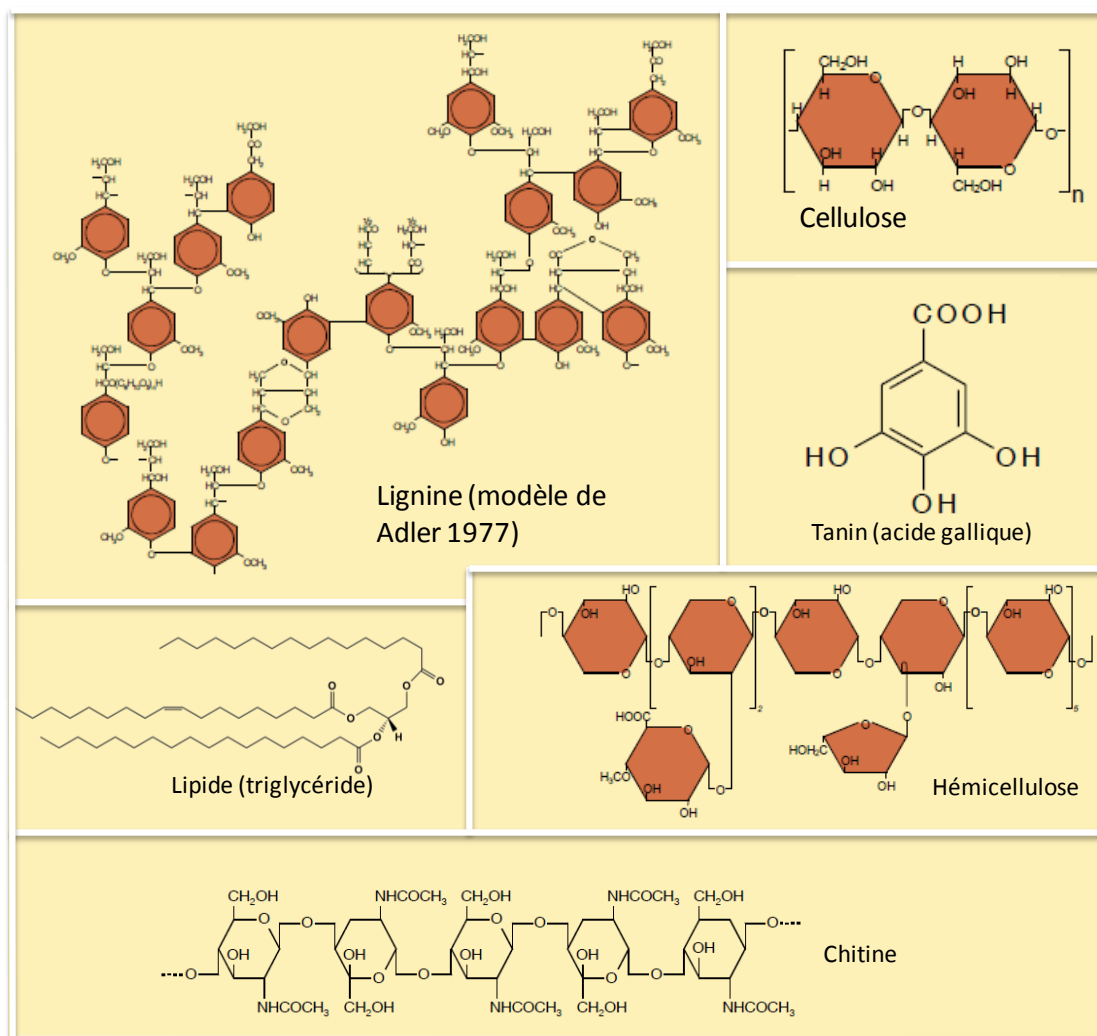


Figure 9 : Composés de la MOS et leurs structures moléculaires. Figure modifiée à partir d'Indrid Kögel-Knabner (communication personnelle).

La vision de la structure des MOS et de leur évolution a été remise en question au cours de la dernière décennie (Sutton et Sposito, 2005 ; Kelleher et Simpson, 2006). Trois catégories de matières organiques étaient auparavant définies (Gobat et al., 2010) : l'humine, fraction insoluble des substances humiques ; les acides humiques, solubles sous des

conditions basiques mais non solubles en conditions acides ; les acides fulviques, solubles quelles que soient les conditions (acide, neutre ou basique). Cette séparation historique de la MOS en trois fractions est en fait une séparation essentiellement opérationnelle qui ne démontre pas l'existence de ces trois types de molécules dans les sols (Fig 10). Les nouvelles techniques de pointe utilisées pour étudier les MOS *in situ* telles que la spectroscopie à résonance magnétique nucléaire du ^{13}C (RMN) ou d'absorption des rayons X (NEXAFS) par exemple, permettent une observation directe de ces substances (Fig 10 ; Kelleher et Simpson, 2006 ; Lehmann et al., 2008). Ces observations remettent en question le principe même d'humification des MO dans les sols, la MOS observée à fine échelle ($< 50\text{ nm}$) étant plus simplement interprétée comme des biopolymères très variables mais identifiables, similaires à des résidus végétaux ou microbiens au contact d'assemblages minéraux (Lehmann *et al.*, 2008). Les substances humiques extraites au laboratoire seraient plutôt des supramolécules composées de molécules organiques très variées et de petite taille formant des grappes liées entre elles par des liaisons hydrogènes et des interactions hydrophobes (Piccolo, 2001).

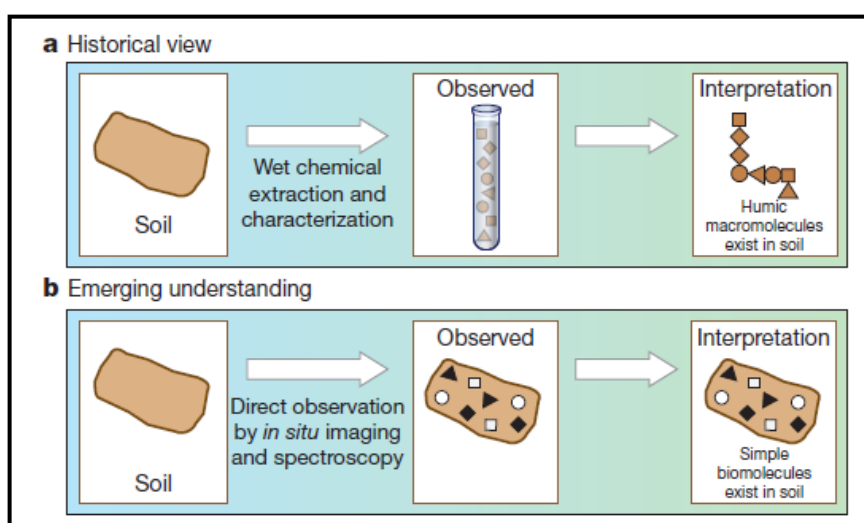


Figure 10 : L'existence des substances humiques n'a pas été vérifiée par des mesures directes. A) Extraction chimique qui conduit à l'observation de polymères humiques considérés comme très récalcitrants. B) Observations directes grâce à des mesures non destructives (spectroscopie) qui permettent d'expliquer les groupes fonctionnels chimiques des substances humiques comme de simples biomolécules et non des macromolécules (Schmidt et al., 2011).

3. Mécanismes qui contrôlent le temps de résidence du C organique dans les sols

Le C du sol est stocké durant un laps de temps plus ou moins long s'étalant de quelques heures à plusieurs millénaires. Ce temps de résidence dans le sol dépend de nombreux mécanismes. Les mécanismes de stabilisation des MOS sont définis comme l'ensemble des processus menant à prolonger le temps de résidence du C organique dans le sol, en retardant leur minéralisation par les microorganismes décomposeurs. Dans cette section de l'introduction, nous décrirons tout d'abord l'ensemble des mécanismes permettant de protéger la MOS de la dégradation microbienne (protection physique et/ou chimique), puis nous décrirons en détail les étapes clés de la minéralisation des MOS par les microorganismes décomposeurs, en mettant l'accent sur le fort contrôle des conditions environnementales sur l'activité microbienne de décomposition.

3.1. Mécanismes de protection de la MOS menant à sa non dégradation

Actuellement, les mécanismes permettant la protection de la MOS sont généralement divisés en trois grandes catégories (Sollins *et al.*, 1996, 2007; Von Lützow *et al.*, 2006): (i) La préservation sélective de certaines catégories de MOS, (ii) l'inaccessibilité spatiale des MOS, (iii) l'interaction avec la fraction minérale (adsorption).

3.1.1. La préservation sélective (liée à la nature chimique des entrées)

Les MOS sont caractérisées par des structures et compositions chimiques hétérogènes. Certaines molécules organiques sont connues pour être moins facilement biodégradables en raison de leur structure moléculaire et de leur composition.

Le mécanisme de stabilisation par préservation sélective de la MOS est le résultat d'une dégradation préférentielle opérée par les micro-organismes. Certaines molécules organiques seront dégradées plus rapidement que d'autres en raison de leurs propriétés chimiques intrinsèques, leur conférant un attrait et/ou une facilité de dégradation plus importante pour les micro-organismes (Von Lützow *et al.*, 2006 ; Trumbore, 2009 ; Kleber, 2010 ; Schmidt *et al.*, 2011). Les propriétés moléculaires qui influent sur la vitesse de décomposition de la MOS sont nombreuses, telles que par exemple la polarité de la molécule organique, sa taille, la présence ou non de ponts ester, la présence et la longueur des chaînes

hydrocarbonées (Von Lützow et al., 2006). L'expérience réalisée par J.P Martin et K. Haider (1971) (Fig.11) illustre bien ce concept. En effet, après 12 semaines d'incubation, les composés organiques les plus polymérisés (6 et 7) sont préservés au contraire des composés organiques moins polymérisés ou plus simples (1 et 2).

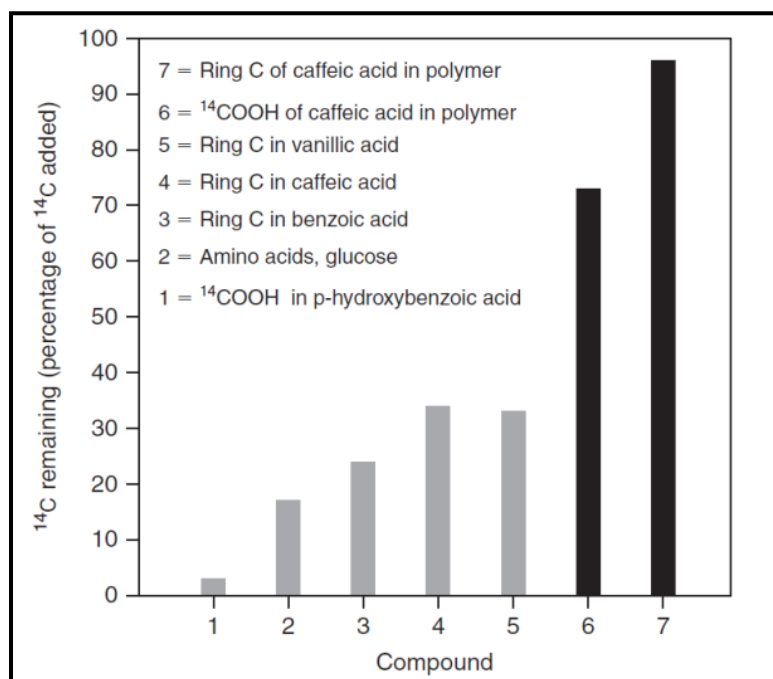


Figure 11 : Effets du degré de polymérisation sur la décomposition après 12 semaines d'incubation (Kleber, 2010).

Comme le souligne Kleber (2010), le terme « récalcitrance » peut avoir une signification différente selon les auteurs. La récalcitrance peut être définie d'un point de vue de la composition chimique de la MO. Dans ce cas, le nombre d'étapes enzymatiques nécessaires à la libération d'un atome de C permettra de définir le degré de récalcitrance de la molécule organique. Moins il y aura d'étapes nécessaires, plus le composé sera labile. La récalcitrance peut également être définie d'un point de vue énergétique. Il s'agira ici d'appréhender la molécule organique comme une entité capable de libérer de l'énergie lors d'une oxydation et combustion. Les composés labiles présentent une quantité d'énergie plus importante par unité de carbone. La taille de la molécule organique (poids en Dalton) peut définir une molécule comme récalcitrante si celle-ci ne peut pas pénétrer directement dans les cellules microbiennes. Enfin, la récalcitrance peut être définie de manière opérationnelle. Il s'agit des MOS résistants à une expérimentation d'incubation ou résistants à une attaque chimique (hydrolyse acide, extraction alcaline, oxydation chimique), ou thermique. La notion de récalcitrance englobe de nombreux mécanismes liés aux propriétés chimiques des MOS. Il

est à noter que l'usage trop général de ce terme peut entraîner des confusions (Kleber, 2010 ; Von Lützow et Kögel-Knabner, 2010).

Très longtemps considéré comme le mécanisme majeur de stabilisation des MOS, le rôle de la préservation sélective de certains composés en fonction de leur chimie intrinsèque sur le long terme a été totalement remis en question. En 2011, Schmidt et ses collaborateurs ont réalisé une revue de l'âge moyen des différentes classes de biopolymères rencontrés dans les sols (données expérimentales sur plusieurs décennies ; Fig.12). Contrairement à de nombreuses expérimentations à court terme (e.g. études de décomposition en sachets de litières ; Berg et McClaugherty, 2008), ils n'ont pu mettre en évidence aucune différence significative de temps de résidence entre les différentes catégories chimiques de MOS, sauf pour les matières organiques d'origine pyrogéniques (charbons) dont le temps de résidence dans les sols est important, mais également extrêmement variable (Fig.12 ; Schmidt et al., 2011). La structure chimique des charbons principalement formée de cycles aromatiques condensés serait la raison de leur persistance sur des temps longs dans les sols (Preston et Schmidt, 2006).

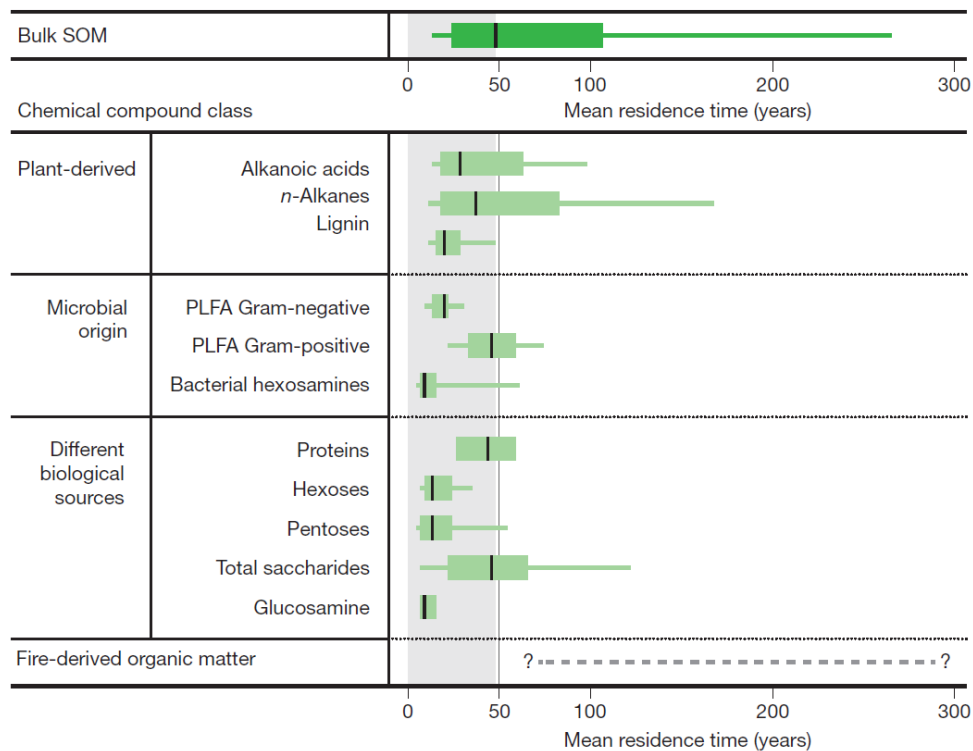


Figure 12 : Temps de résidence des MOS en fonction de leurs structures (Schmidt *et al.*, 2011).

La préservation sélective de certaines catégories de MOS, si elle peut avoir un rôle important pour la dynamique des communautés microbiennes (Pascault et al., 2010) et la faune du sol, ne joue donc qu'un rôle mineur dans la détermination du stockage à long terme de C dans les sols. Tenter de prédire les taux/vitesses de décomposition de la MOS uniquement par des critères chimiques liés à la récalcitrance s'avère inadapté (Von Lützow et Kögel-Knabner, 2010). Ce mécanisme n'agit généralement que sur des temps relativement courts (de l'année à la décennie) et correspond donc au pool « actif » de la MOS, largement minoritaire au sein des MOS stockées dans les sols.

3.1.2. Mécanisme d'inaccessibilité spatiale

Le mécanisme de stabilisation par inaccessibilité spatiale résulte de l'isolement de la MOS envers les agents de décomposition (micro-organismes, enzymes). Cet isolement permet de protéger la MO de la minéralisation. De nombreux processus peuvent être à l'origine de l'isolement de cette MO (agrégation, hydrophobicité, encapsulation dans des macromolécules organiques), le plus important étant le processus d'agrégation. Ce processus résulte de la création de macro-agrégats (>250µm) composés de micro-agrégats (<250µm) agglomérés entre eux (Six *et al.*, 2004) (Fig.13). Leur formation est très dépendante de la vie du sol et notamment du rôle des vers de terre et des filaments mycéliens (Rillig et Mummey, 2006 ; Bossuyt et al., 2005). Emprisonnée au sein de l'agrégat la MOS est protégée spatialement de la décomposition microbienne par (i) un accès réduit aux microorganismes et à la diffusion de leurs enzymes et (ii) une limitation de la diffusion de l'oxygène qui limite la décomposition aérobie (Von Lützow et al., 2006). La matière organique libre et non protégée par des agrégats possède un temps moyen de résidence dans le sol beaucoup plus court. John *et al.*, (2005) ont montré que l'âge moyen de la freePOM (déterminé par évolution de la concentration en ^{13}C) était de 22 ans alors que celle protégée au sein des agrégats était de 83 ans. Le constat est le même pour l'étude de Baisden et al. (2002), 6 ans de temps de résidence moyen (freePOM) comparé à 28 ans (occPOM) (détermination du ratio $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ après épisodes d'essais nucléaires) et l'étude de Meyer *et al.* (2011) avec des valeurs de 4 à 8 ans pour la freePOM et 76 à 142 ans (détermination du ratio $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ après épisodes d'essais nucléaires) pour la POM contenue dans les agrégats. L'hydrophobicité de la MO du sol apparaît également comme un facteur qui peut isoler la MO de ses agents de décomposition présents

dans la solution du sol. De plus, Bachmann et al. (2008) ont montré que l'hydrophobicité de la MO peut augmenter la stabilité des agrégats du sol.

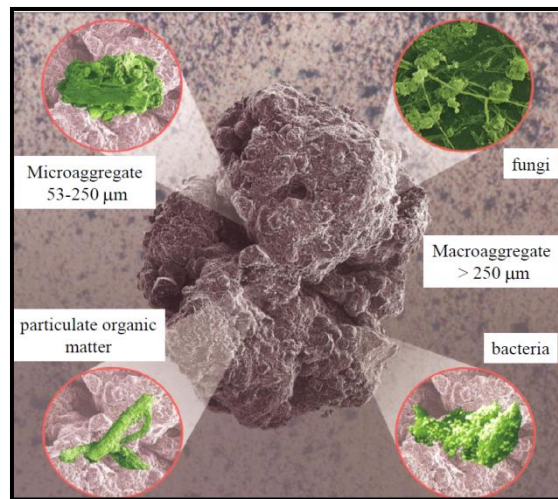


Figure 13 : Principaux éléments d'un macro-agrégat (Six, communication personnelle).

Le sol peut être vu comme un désert pour les microorganismes, où la vie n'est possible qu'au sein d'oasis fournissant des ressources et des conditions environnementales indispensables. Les MOS peuvent donc être protégées de la dégradation simplement par le fait qu'elles ne rencontrent pas d'agents de décomposition au cours de leur enfouissement dans les horizons profonds du sol, c'est le concept de « random walk » (Fig. 14, Dungait et al., 2012).

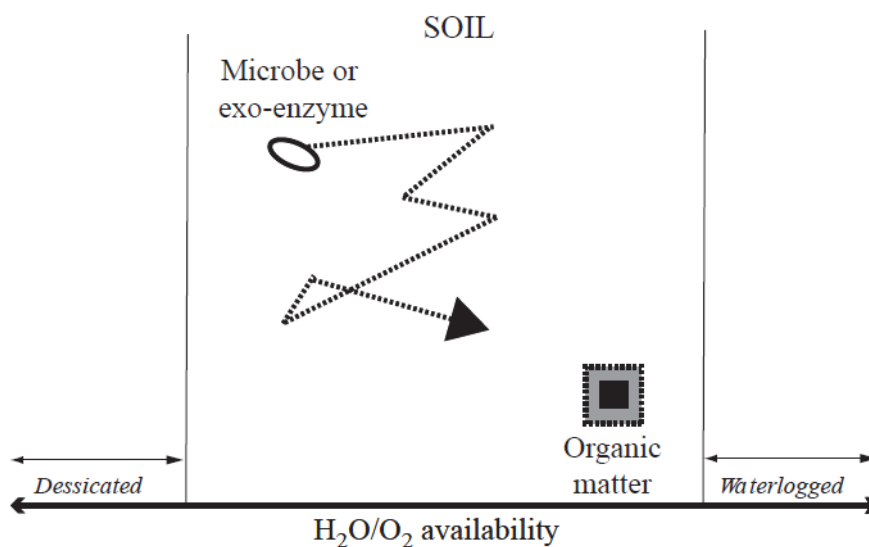


Figure 14 : Schéma théorique de la route empruntée par les microorganismes via les enzymes extracellulaires du sol pour accéder aux MOS. La ligne en pointillé représente les nombreux obstacles rencontrés avant de pouvoir accéder à la ressource. Exemples d'obstacles : pH, température, pores du sol,

interactions minérales, énergie d'activation enzymatique, etc. (Dungait *et al.*, 2012)

3.1.3. Interactions avec le compartiment minéral

Des associations directes entre la MOS et les minéraux primaires ou secondaires se produisent dans le sol. Ces associations conduisent à la stabilisation de la MO adsorbée aux surfaces minérales (oxydes et minéraux argileux principalement, qui ont une surface spécifique importante et chargée). De nombreuses liaisons chimiques sont mises en jeu au sein des complexes organo-minéraux ainsi formés (Fig.15). Il s'agit principalement de liaisons hydrogènes, covalentes, de Van der Waals et de liaisons ioniques (Fig. 15).

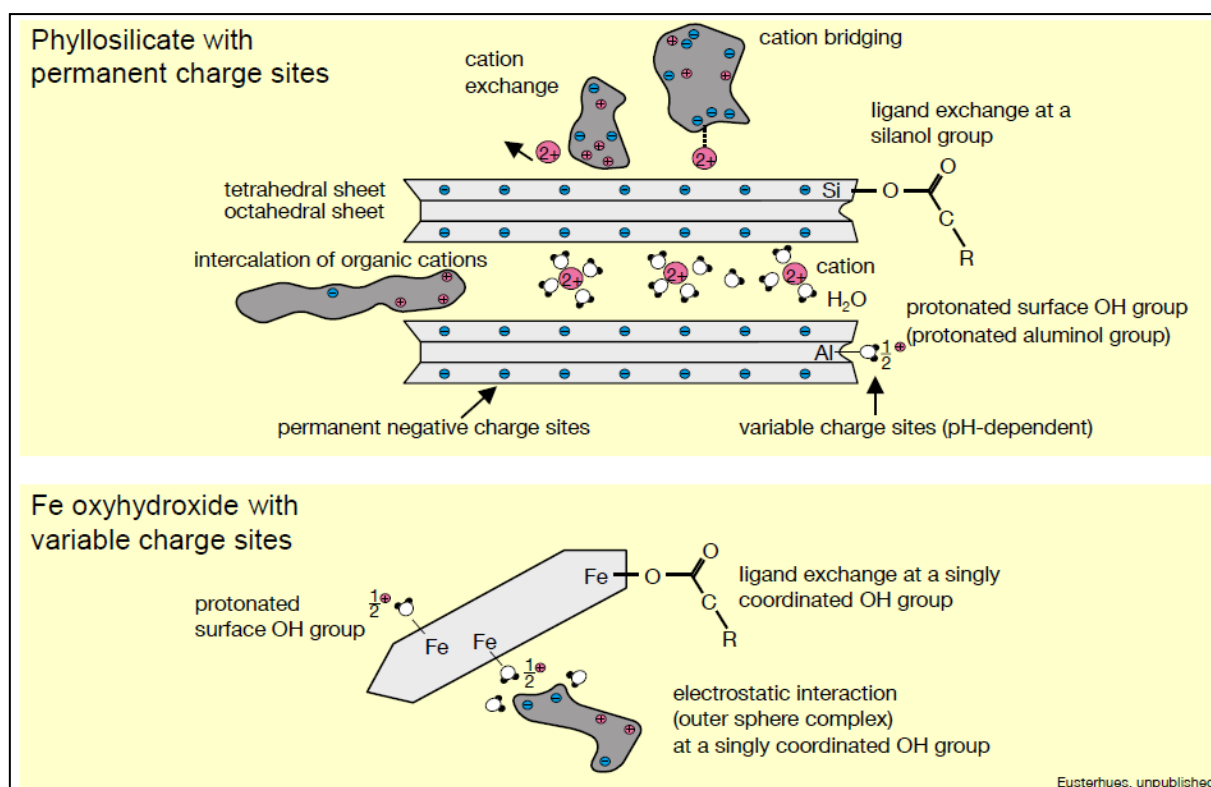


Figure 15 : Représentation d'interactions organo-minérales avec les argiles ou les oxydes de fer (Kögel-Knabner, communication personnelle, 2011).

De nombreuses études montrent que la MOS associée avec le compartiment minéral présente un temps de résidence dans le sol plus important que celui des autres fractions de la MOS (Sollins *et al.*, 1996 ; Baldock et Skjemstad 2000 ; Mikutta *et al.*, 2006, Huang *et al.*, 2005). Il est généralement admis que le temps de résidence de la MOS augmente lorsque la taille des fractions de sol diminue et que leur densité augmente, bien que Baldock (2007), ait

regroupé une série d'études ne montrant aucune relation claire entre la taille des fractions et leur âge (Dungait et al., 2012). Toutefois, l'interaction entre la MOS et les minéraux est reconnue aujourd'hui comme étant le mécanisme de stabilisation de la MO permettant sa préservation sur le long terme (Mikutta et al., 2006 ; Von Lützow et al., 2006 ; Kleber 2010 ; Marschner et al., 2008).

Pour être décomposée par les microorganismes, la MOS doit être désorbée des surfaces minérales. Ce processus est énergétiquement défavorable aux microorganismes et a donc peu de chance de se produire (Torn et al., 2009). L'association des molécules organiques aux minéraux change leurs conformation et entrave ainsi la catalyse enzymatique de la réaction de décomposition (Von Lützow et al., 2006). Les temps moyens de résidence (mesures du radiocarbone ^{14}C) des MOS liées aux minéraux après un fractionnement densimétrique tendent à démontrer l'efficacité de ce mécanisme de stabilisation. Meyer et al. (2011) et Budge et al. (2011) ont estimé que le temps de résidence moyen était compris entre 142-250 ans et 534 ans respectivement. Au sein des horizons de profondeur des sols, la matière organique dissoute (DOM) interagit également avec la phase minérale du sol et se retrouve ainsi fortement stabilisée. La minéralisation de la DOM associée aux minéraux est réduite de 30 % comparée à la DOM en solution (Kalbitz et al., 2005). La stabilisation de la MOS dépend de la nature chimique de la fraction minérale de la présence de cations multivalents et de surfaces minérales capables d'adsorber les MO (Baldock et al., 2000). En fonction du type de sol et de la roche mère, ce ne sont pas les mêmes minéraux qui stabilisent les MOS (Kaiser et Guggenberger, 2000). Von Lützow et al. (2006) et Barré et al. (2014) ont publié des revues qui dressent l'inventaire complet des modes d'interactions organo-minérales dans les sols, et discutent l'effet stabilisateur respectif de ces interactions sur la MOS.

Au final, la vision actuelle des mécanismes menant à la préservation durable du C organique dans le sol suggère donc que la structure chimique des MOS a un rôle secondaire dans la détermination du temps de résidence du C dans les sols. Ce mécanisme ne joue que pour une fraction minoritaire du stock de MOS, le pool « actif » de temps de résidence inférieur à la décennie. La stabilité à plus long terme du C organique dans les sols dépend principalement de son environnement biotique et abiotique (Fig.16 ; Schmidt et al., 2011). La protection des MOS par inaccessibilité spatiale au sein d'agrégats pourrait correspondre au pool de C organique « intermédiaire » avec un temps de résidence compris entre 10 et 100 ans. Enfin la stabilisation par interactions organo-minérales pourrait correspondre au pool de

C organique « passif ou stable » avec des temps de résidence supérieurs à 100 ans. La majeure partie des stocks de C organique des sols tempérés est stockée de manière stable dans les pools intermédiaires et passifs (Barré et al., 2010). Il est intéressant de noter que les recherches les plus récentes montrent que plus le C organique est stable, plus il est sensible à une augmentation de température (Lefèvre et al., 2014). Ces résultats expérimentaux indiquent une forte sensibilité aux changements environnementaux d'une partie importante des stocks de C des sols tempérés.

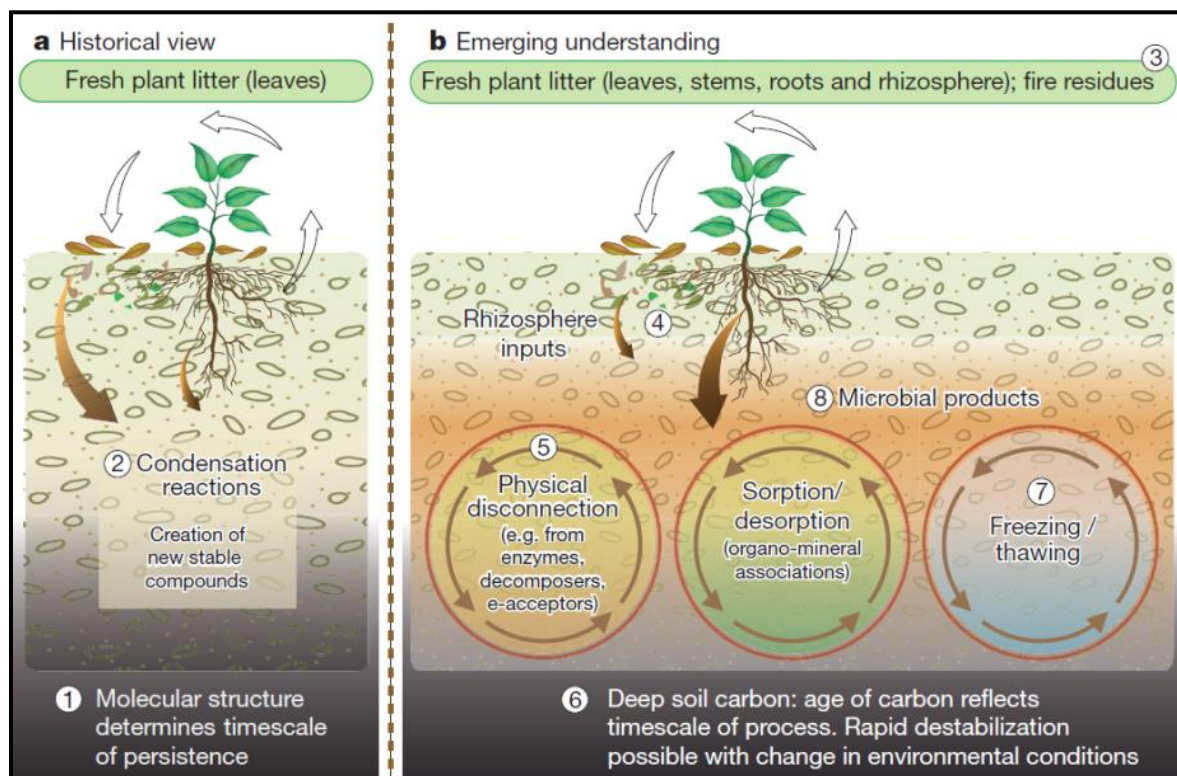


Figure 16 : Evolution de notre vision de la dynamique de stabilisation du Corg du sol. a) Les propriétés chimiques de la MO sont responsables de sa stabilisation. b) Compréhension actuelle des différents mécanismes de stabilisation du Corg. Le rôle des conditions environnementales (climat, ambiance minérale, activité biologique) est primordial (Schmidt et al., 2011).

Différents mécanismes biogéochimiques stabilisent le C organique dans les sols. Ces mécanismes sont définis par les caractéristiques environnementales biotiques et abiotiques des sols (Climat, ambiance minérale et activités biologiques), et peuvent interagir avec la chimie de la MOS.

4. Facteurs régulant l'activité microbienne de décomposition de la MOS

Plusieurs facteurs abiotiques et biotiques modifient l'activité enzymatique de décomposition des MOS. En 2009, Trumbore a souligné l'importance du climat et de l'inhibition de l'activité des microorganismes décomposeurs comme facteurs clés de la stabilisation des MOS. Plus précisément, l'activité de décomposition des MOS par les microorganismes du sol dépend (i) de la quantité d'enzymes excrétée et de ce fait de, la composition, de l'abondance et de la structure des communautés microbiennes, (ii) de leur diffusion à travers le sol et leur probabilité de rencontrer de la MOS (leur ressource), et (iii) de l'efficacité de la réaction enzymatique (cinétique) (Caldwell, 2005 ; Allison et al., 2010 ; Burns et al., 2013 ; Henry, 2013 ; Sinsabaugh et al., 2009 ; Conant et al., 2011 ; Davidson et Janssens, 2006).

4.1. Les communautés microbiennes excrètent les enzymes du sol

Les communautés microbiennes sont responsables de la production des enzymes extracellulaires (EE) du sol. Leur dynamique de population et leur activité physiologique sont donc les premiers facteurs qui influencent la quantité d'enzymes produites (Allison et al., 2010). La biomasse microbienne est donc logiquement un paramètre fortement lié à la quantité d'enzymes dans le fonctionnement des modèles enzymatiques de dynamique du C organique du sol (Steinweg et al., 2013 ; Wang et al., 2013). La composition des communautés pourrait également influencer la production d'enzymes. Par exemple, les laccases sont largement produites par les ascomycètes et les basidiomycètes au contraire des chytridiomycètes ou zygomycètes (Sinsabaugh, 2010). Plus généralement, les bactéries et champignons n'ont pas les mêmes stratégies d'acquisition des ressources et leur abondance relative au sein de la communauté microbiennes peut bouleverser le pool d'enzymes excrétées à travers le sol (Bardgett et al., 2005). Par conséquent, les conditions climatiques modifient indirectement la production d'enzymes via leur influence sur la démographie et le métabolisme des communautés microbiennes (Allison et al., 2010 ; Gobat et al., 2010).

4.2. La probabilité de rencontre entre les agents de décomposition (enzymes) et leurs substrats dépend des conditions climatiques

4.2.1. La diffusion des enzymes du sol à travers la matrice du sol

La diffusion des enzymes et des substrats organiques à travers le sol a un fort effet sur le taux d'activités enzymatiques des sols (Burns et al., 2013). La teneur en eau et l'ossature (texture, structure, porosité) du sol régulent le transport des éléments des sols. Par conséquent un sol trop sec ne permettra pas aux enzymes excrétées par les microorganismes de rencontrer les substrats organiques ou seulement de manière très atténuée. En retour, les produits de la réaction seront difficilement récupérables par les microbes. Au contraire un sol trop humide facilite la diffusion des différents éléments du sol mais crée un milieu anoxique bloquant ainsi de nombreuses réactions enzymatiques nécessitant de l'oxygène (Henry, 2013). Le climat a ici un effet direct sur le milieu réactionnel. Les sols des milieux boréaux, arctiques ou alpins sont un bon exemple de l'effet du climat sur la limitation de la production et de la diffusion des enzymes à travers le sol. Sous l'effet de températures extrêmement basses, ou extrêmement chaudes et sèches, l'activité microbienne de décomposition est bloquée (croissance des communautés microbienne et diffusion des enzymes ralenties ou stoppées) (Allison et Treseder, 2008). Il en résulte que malgré leur faible productivité primaire, ces sols stockent de grandes quantités de carbone sous forme de MO particulières très peu décomposées et non liées aux minéraux ou englobées au sein d'agrégats (Saenger et al., 2013 ; Sjögersten et al., 2011 ; Leifeld et al., 2009a). Leur stabilisation est ici clairement dépendante des conditions climatiques d'où leur grande vulnérabilité suspectée face aux changements climatiques globaux (Schuur et al., 2008 ; Sjögersten et al., 2011).

4.2.2. La disponibilité de la MOS, ressource énergétique des microorganismes

Les mécanismes de stabilisations environnementales décrits précédemment régulent la disponibilité de la MO envers les microorganismes du sol. Ces mécanismes sont susceptibles d'être sensibles aux changements des conditions climatiques. Il en résultera soit une augmentation de la disponibilité de la ressource (MO) à dégrader ou au contraire une diminution en fonction des effets du climat sur ces mécanismes. Malgré de nombreuses recherches, aucun consensus n'a encore émergé permettant de définir la sensibilité de la

décomposition de la MO à la température (Davisson et Janssens, 2006). Toute la difficulté réside dans le fait que le climat peut avoir des effets sur de nombreux mécanismes touchant à la décomposition des MO. Les molécules organiques ont une sensibilité à la température qui leur est inhérente. La décomposition des molécules qui ont une structure complexe (comme la lignine) nécessite une énergie d'activation plus élevée que celle des molécules simples. De ce fait, leur sensibilité à l'augmentation de la température devrait être beaucoup plus élevée (Davisson et Janssens, 2006 ; Conant et al., 2011 ; Von Lützow et Kögel-Knabner, 2009). Le climat pourrait donc avoir un effet différent selon la chimie des MO considérée. Outre l'effet des conditions climatiques sur les propriétés intrinsèques des MO, le climat pourrait modifier les mécanismes physico-chimiques qui protègent la MO de la décomposition. Il s'agit principalement du taux de renouvellement des agrégats et des processus d'adsorption/désadsorption des MO aux minéraux (Fig.17). La formation et la stabilité des agrégats peuvent être impactées directement par le climat. Il s'agit essentiellement du régime des précipitations et des cycles gel/dégel (Cécillon et al., 2010 ; Sollins et al., 1996 ; Bissonais et Souder, 1995). De plus, leur formation et renouvellement est régi par la faune et de la flore du sol. Tout effet du climat sur la vie du sol a un effet indirect sur protection de la MO par le processus d'agrégation. Concernant le processus d'interaction organo-minéral, l'effet d'une augmentation de la température dépend du type d'interactions en jeu. L'adsorption des MO pourrait augmenter (cas des liaisons de faibles affinités), rester insensible (liaisons covalentes) ou diminuer (liaisons de hautes affinités) (Fig.17). De plus la disponibilité de la ressource dépend également de la quantité de MO entrant dans le système sol et ainsi de la réaction de la production primaire aux changements climatiques.

4.2.3. Cinétique de décomposition et conditions climatiques

Enfin, le troisième effet des conditions climatiques sur l'activité microbienne de décomposition des MO concerne la cinétique des réactions enzymatiques de dépolymérisation. La cinétique de l'activité enzymatique définit son efficacité à dégrader les MOS. La cinétique d'une réaction enzymatique est décrite par la réaction de Michaelis-Menten. Cette équation relie la vitesse de la réaction à la concentration de substrat et à des paramètres constants, caractéristiques de l'enzyme. Elle permet de décrire la cinétique de nombreuses enzymes mais n'est pas adaptée dans les cas d'enzymes aux comportements complexes (multiples sites actifs ou substrats).

$$V_i = V_{max} \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

Equations de Michaelis-Menten

K_m concentration en substrat pour laquelle la vitesse de réaction est égale à la moitié de la valeur maximale. Valeur spécifique de l'enzyme. S : concentration en substrat. V_i : vitesse initiale de la réaction (absence de produit de la réaction), en concentration de produit par unité de temps (mol/min). V_{max} : vitesse maximum de transformation du substrat (concentration saturante)

La cinétique de réaction est donc dépendante de la concentration en substrat. L'abondance du substrat du sol modifie ainsi la vitesse de réaction (Fig.18) (German et al., 2011). La disponibilité de la ressource agit également sur la cinétique enzymatique. Outre la concentration en substrat, la cinétique de la réaction est fortement dépendante des paramètres abiotiques tels que le pH et la température. Le pH a un effet sur la cinétique de réaction en modifiant la structure secondaire ou tertiaire de l'enzyme, et/ou les charges électriques des radicaux des acides aminés du site actif (Shukla et Varma, 2010). On définit ainsi pour chaque enzyme un pH optimum (Tabatabai, 1994 ; Turner, 2010). Dans le sol, le pH peut être très hétérogène et ce à des échelles très fines. Par conséquent, la cinétique de réaction d'une enzyme peut être spatialement très hétérogène. Les conditions climatiques par le biais de la température ont également un fort effet direct sur la cinétique de la réaction enzymatique (relation d'Arrhenius). La réaction enzymatique est facilitée par un supplément d'énergie que le milieu apporte sous forme de chaleur. Un indicateur, le Q_{10} , permet de mesurer l'activation de l'enzyme par la chaleur. Pour ce faire, il est nécessaire de comparer l'activité de l'enzyme à une température T avec son activité à une température $T + 10^\circ\text{C}$.

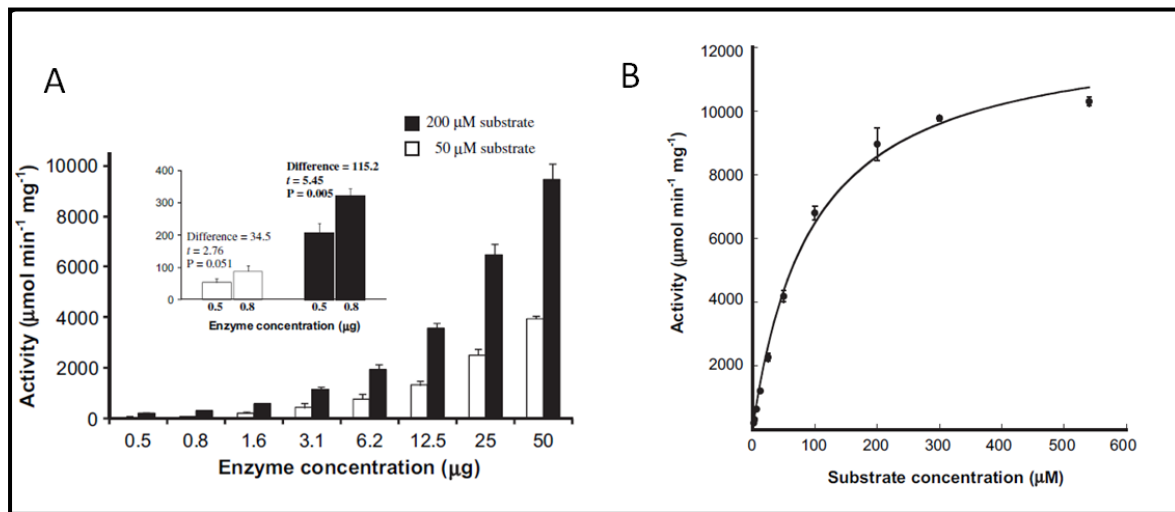


Figure.18 : A) Influence de la concentration en enzymes sur la vitesse de réaction, B) Influence de la concentration en substrat sur la cinétique de la réaction (modifiée d'après German et al., 2011).

5. Bilan des effets possibles du climat sur la dynamique de décomposition du C organique

Le climat a de nombreux effets sur les facteurs de la décomposition (microorganismes et exo enzymes) ainsi que sur les mécanismes environnementaux de protection des MOS (agrégats, réactions chimiques, interactions organo-minérales) (Fig.17). Le climat affecte ainsi l'habitat microbien, sa ressource, les microorganismes eux-mêmes, les vecteurs d'échanges (eau et atmosphère) et les entrées de MO. De plus, de nombreuses interactions existent entre ces différentes entités. Par exemple, une modification de la quantité de substrat disponible modifie la cinétique de décomposition enzymatique (Allison., 2005a; Erman et Hacon., 2011 ; Sinsabaugh et al., 2008) ce qui aura un impact sur les communautés microbiennes qui elles-mêmes influencent l'habitat du sol (Davet, 1996 ; Gobat et al., 2010). De nombreuses réactions en cascade peuvent avoir ainsi lieu. Pour comprendre les effets des changements climatiques globaux, il apparaît nécessaire d'étudier le sol dans son ensemble. De plus, il est à noter que l'effet de l'augmentation des températures du sol est beaucoup plus étudié que celui des modifications de l'humidité du sol. L'eau étant pourtant un vecteur essentiel du sol

régulant de nombreuses interactions entre le vivant et sa ressource, et pouvant être le facteur limitant de la minéralisation des MOS (Moyano et al., 2012).

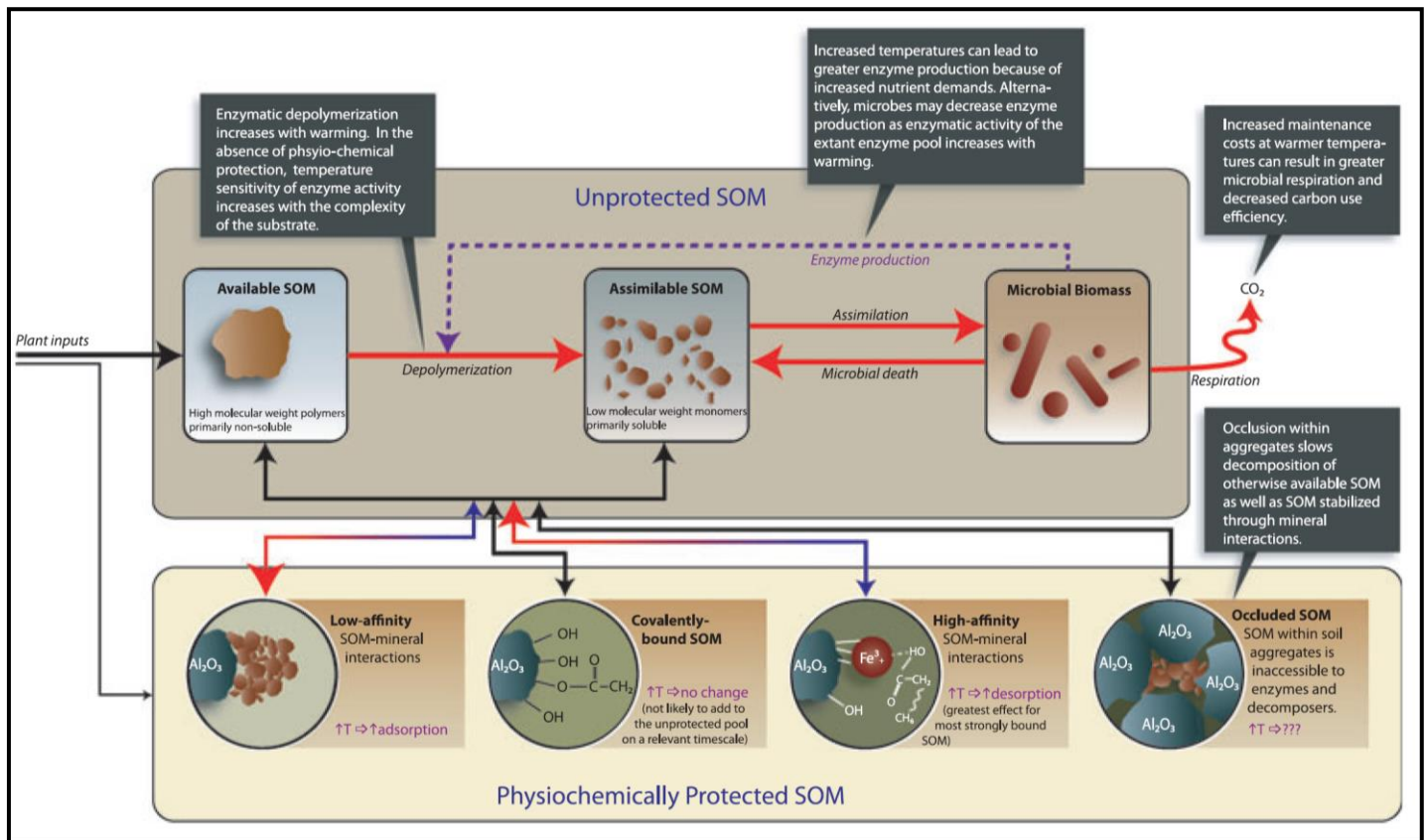


Figure.17 : Modèle conceptuel des mécanismes influençant la décomposition de la MO du sol (Conant et al., 2011). Les différentes flèches indiquent les flux de MO. En rouge les flux qui augmentent avec l'augmentation de la température. En bleu, les flèches indiquent un ralentissement du flux. Les flèches noires correspondent aux flux dont la réponse à l'augmentation de la température est très peu connue.

D'importants progrès sont nécessaires pour comprendre les effets de l'augmentation de la température sur les mécanismes qui régulent la disponibilité de la ressource, la production d'enzymes, l'adaptabilité des communautés microbiennes et l'efficacité des réactions de dépolymérisation enzymatique. Cette compréhension est indispensable pour prédire le rôle futur des sols en tant que puits ou source de carbone dans un monde plus chaud. (Conant et al., 2011)

III. Changements climatiques, incertitudes liées à l'évolution des stocks de C organique des sols, cas des prairies subalpines

1. Les changements climatiques actuels et prévus

Le réchauffement climatique global est sans équivoque (IPCC, 2013). De nombreuses manifestations du changement climatique sont observées depuis les années 1950. Les températures des océans et de l'atmosphère ont augmenté, de même que le niveau de la mer et les concentrations en gaz à effet de serre. De plus, les surfaces couvertes par la neige et la glace ont diminué. Au niveau de l'hémisphère Nord, les trois dernières décennies ont été les plus chaudes jamais observées depuis 1850 et probablement depuis 1400 ans. De 1880 à 2012, la température terrestre de surface a augmenté de 0.85 °C (0.65 à 1.06 °C). Le faible réchauffement observé sur la période 1998 à 2012 (-0.05, +0.15 °C) trouve son origine sur des variations climatiques à des échelles temporelles courtes (phénomène El Nino, fenêtre temporelle choisie).

Il est très fortement probable que les épisodes de vagues de chaleurs et de précipitations abondantes aient augmenté en Europe depuis 1950.

Les effets du réchauffement climatique sur les régions de montagne européennes sont déjà mesurables. Les massifs de montagnes suisses (Alpes et Jura) ont vu leurs températures annuelles moyennes augmentées de 1.5 °C au cours du 20^{ème} siècle (Beniston et al., 1997). A cette augmentation de la température annuelle moyenne s'est ajoutée une recrudescence d'évènements climatiques considérés comme extrêmes. Il s'agit des périodes de fortes chaleurs en été et de sécheresses prolongées (Beniston, 2009). De plus la durée de recouvrement du manteau neigeux et son épaisseur ont également tendance à diminuer avec une augmentation des précipitations sous forme de pluie en hiver (Beniston et al., 1997 ; Mote et al., 2005). Il est à noter cependant que les modifications climatiques observées sont extrêmement variables selon la région et la saison. Schmidli et Frei (2005) ont montré une forte augmentation de la pluviométrie hivernale. Cependant une étude plus récente confirme cette tendance seulement dans le nord de la Suisse et en automne. Les changements climatiques observés dans les régions alpines sont deux fois plus importants que ceux

observés en plaine (Gobiet et al., 2014). Les reliefs alpins et jurassiens peuvent être considérés comme de véritables "tours de guet" pour l'étude des changements climatiques.

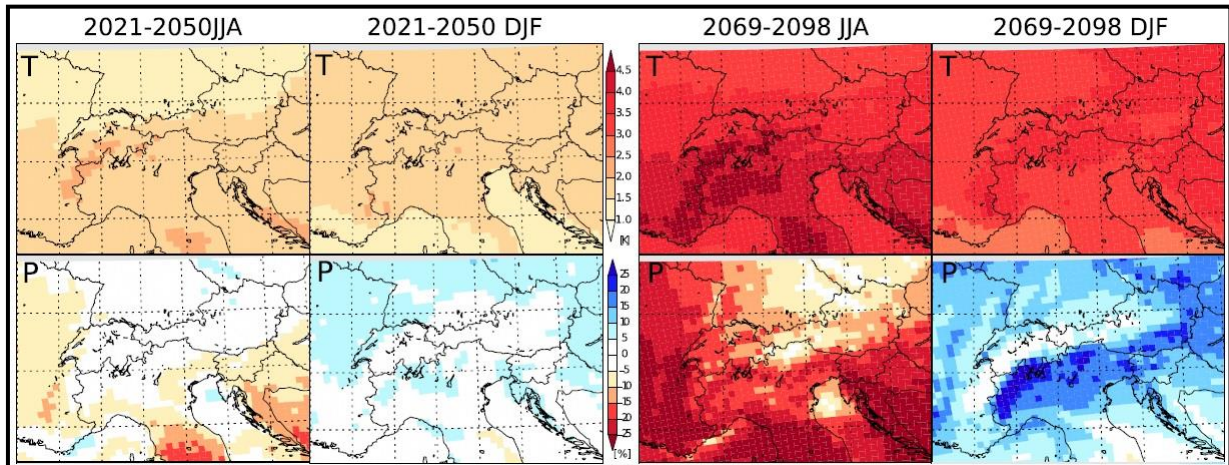


Figure.19 : Prédiction climatique pour le 21^{ème} siècle lors de la saison hivernale (DJF) et estivale (JJA) basées sur le modèle de A1B d'émission de gaz à effet de serre. T: Température et P : Précipitations. L'évolution des températures est exprimée en degrés Kelvin et les précipitations en pourcentages (Gobiet et al., 2014).

Les prévisions climatiques pour le 21^{ème} siècle se basent sur différents scénarios d'émission de GES. Les prévisions climatiques prédisent une augmentation de la température annuelle moyenne quelle que soit la saison considérée. Ces augmentations seront plus fortes en été et en hiver (Gobiet et al., 2014, IPCC, 2013). Ces augmentations sont de l'ordre de 1.2 à 1.6° C prévues pour la moitié du 21^{ème} siècle et de 2.7 à 3.8 °C pour la fin du 21^{ème} siècle. La robustesse de ces prévisions est confirmée par la même tendance observée par tous les modèles climatiques même si l'amplitude varie fortement (3 °C de différence entre les modèles opposés d'ici la fin du 21^{ème} siècle). Concernant les précipitations, une raréfaction des précipitations estivales est attendue en été ainsi qu'une augmentation des précipitations en hiver (Fig.19). Cependant, la direction et l'amplitude de ces prédictions varient grandement d'un modèle à l'autre et s'avèrent très hétérogènes spatialement. Une forte divergence des prédictions est observée entre les Alpes du sud et les Alpes du nord. La diminution des

précipitations estivale est relativement robuste (89% des modèles vont dans ce sens). Outre les précipitations et la température, il est attendu une diminution du rayonnement solaire en hiver et une augmentation en été. Ce paramètre est important à considérer notamment pour la production primaire de biomasse végétale. Enfin, les modèles prédisent une augmentation des événements extrêmes. De plus fortes précipitations en hiver (risques d'érosion et de lessivage de carbone dissout) et une augmentation des périodes de fortes chaleurs et de sécheresse comme celle observée en 2003 sont prévues. Le manteau neigeux est déjà et sera fortement impacté (Fig.20). Cette prévision est d'autant plus importante quand on connaît le rôle du manteau neigeux dans de nombreux processus des écosystèmes alpins (Sjögersten et al., 2011 ; Körner, 2003).

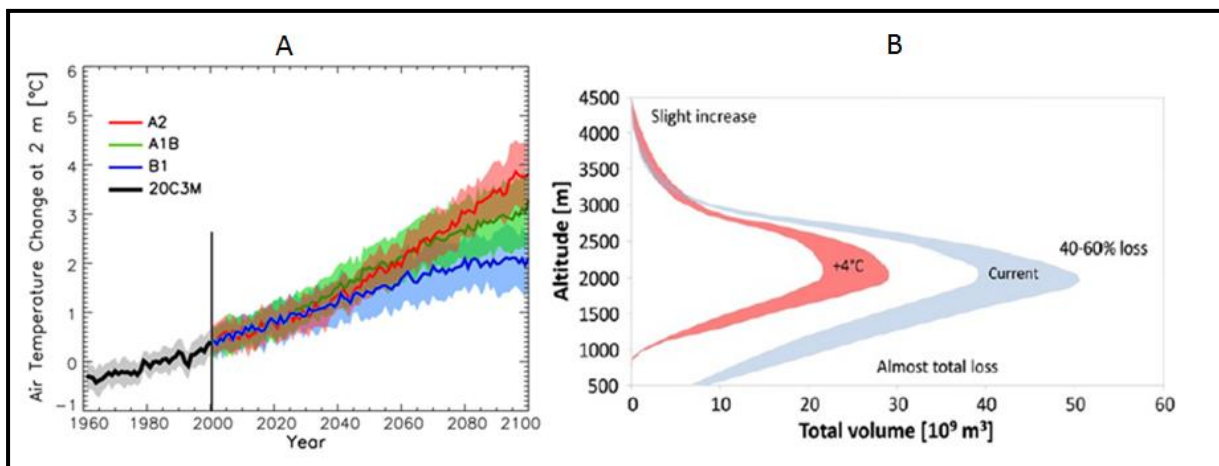


Figure.20 : A) Simulation de l'évolution de la température moyenne au-dessus de l'Europe basée sur le modèle CMIP3. Les différentes couleurs se basent sur des scénarios d'émission de gaz à effet de serre différents. B) Evolution du volume de neige à la fin du 21ème siècle par rapport à celui d'aujourd'hui et en fonction de l'altitude en Suisse. La courbe rouge représente le volume simulé (Modifiée à partir de (Gobiet et al., 2014)).

Les différentes prévisions montrent clairement un réchauffement continu plus ou moins ample selon les scénarios et localités. Concernant les précipitations, il est beaucoup plus difficile de les prédire. Cependant leur distribution annuelle pourrait être modifiée avec un accroissement des précipitations en hiver et une diminution en été. Globalement, le climat des Alpes sera marqué par une forte diminution de la durée et de l'épaisseur du couvert neigeux, de plus importantes précipitations hivernales sous forme de pluie et une augmentation des périodes sèches et chaudes en été. Ces fortes modifications en cours et à venir du climat des régions de montagnes peuvent avoir de forts effets sur les apports, les sorties de C et le fonctionnement du sol. Il est urgent de comprendre l'impact du panel large des modifications climatiques à venir dans les massifs de montagnes comme les Alpes ou le Jura. Ces milieux particuliers sont au cœur d'enjeux économiques et environnementaux et constituent de grands réservoirs de biodiversité et de C.

2. Particularité du climat des montagnes alpines et jurassiennes, cas des prairies subalpines et stock de C

2.1. Particularité du climat montagnard

Au cœur de nombreuses influences climatiques, le climat des massifs des Alpes et du Jura est caractérisé par une très forte hétérogénéité spatiale et temporelle. L'influence climatique océanique et l'altitude élevée définissent un climat froid et humide en hiver. En été, le climat est plutôt sec (influence méditerranéenne). Un gradient des précipitations est observé des massifs externes aux massifs internes (continentalité) ainsi que des Alpes du sud au Jura plus humides (Gobiet et al., 2014 ; Beniston, 2006). De plus le relief entraîne un étagement de la végétation, caractéristique essentielle des zones de montagne (Fig21). La température diminue quand l'altitude augmente (environ 0,6°C pour 100 m) alors que les précipitations augmentent avec l'altitude. Il s'établit donc des zones climatiques différentes, et de ce fait, des écosystèmes particuliers en fonction de l'altitude. Une succession de groupements végétaux différents suivant l'altitude s'établit constituant l'étagement de la végétation. Dans les Alpes, on considère cinq étages de végétation (Station Alpine Joseph

Fourier, www.jardinalpindulautaret.fr) : (i) Etage nival (> 2900m) : neiges éternelles, domaine minéral peuplé par de rares végétaux pionniers, (ii) Etage alpin (2200-2900m) : étendue herbeuse, absence d'arbres, (iii) Etage subalpin (1500-2200m) : contraintes climatiques affirmées, forêts de résineux, prairies entretenues par l'homme, landes à rhododendrons, myrtilles, genévriers (iv) Etage montagnard (900-1500m) : étage forestier par excellence, hêtres, sapins et épicéas, (V) Etage collinéen (300-900m) : forêts de feuillus et cultures. Les altitudes délimitant les limites des étages de végétations ne sont pas fixes et varient en fonction du massif considéré (Alpes du nord, du sud, Prés alpes, Jura Suisse, etc.). Les altitudes diminuent des Alpes du sud vers les Alpes du nord et suivant le versant considéré (Adret ou Ubac). Les précipitations augmentent avec l'altitude et la température diminue

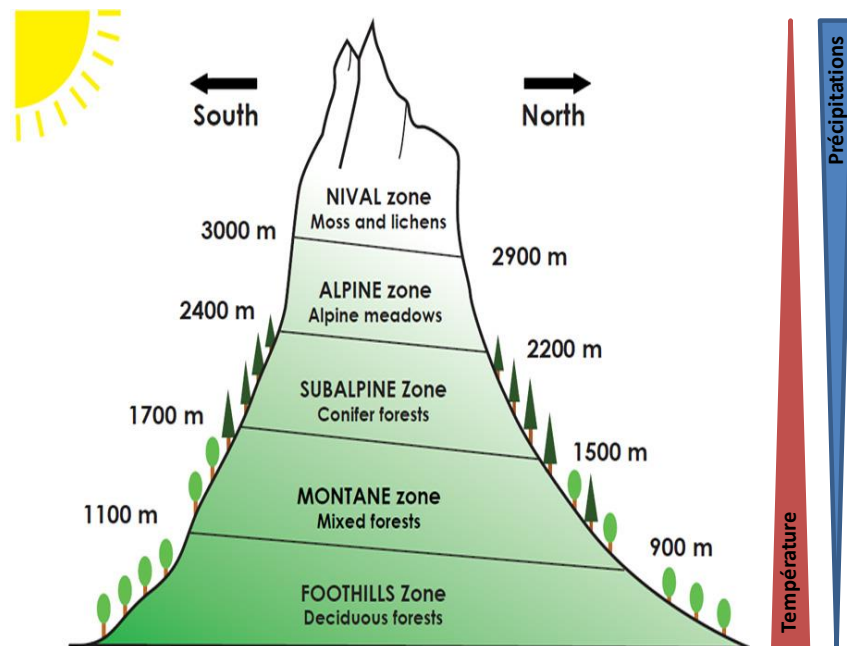


Figure.21 : Etage de végétation suivant l'altitude dans le massif des Alpes. Les altitudes délimitant les limites des étages de végétations diminuent des Alpes du sud vers les Alpes du nord et suivant le versant considérés. Les précipitations augmentent avec l'altitude et la température diminue (Modifiée à partir de la Station Alpine Joseph Fourier, www.jardinalpindulautaret.fr)

En raison du relief, l'exposition des versants régule la radiation solaire et est ainsi un facteur clé pour la dynamique des écosystèmes (Gobiet et al., 2014). Le climat montagnard s'exprime par de fortes amplitudes thermiques journalières (cycles gel/dégel du sol fréquents). Le rythme saisonnier est très contrasté avec des saisons aux conditions climatiques caractéristiques. L'automne et le printemps sont généralement très courts au contraire de l'hiver et l'été. La dynamique du manteau neigeux régule de nombreux processus écosystémiques (rôle d'isolant de l'humidité et la température du sol, date du début de la saison de végétation, lessivage) (Stöhr, 2007). Les sols de montagne ont beaucoup en commun avec ceux des hautes latitudes (courte période de végétation, températures froides, formation des sols et sensibilité aux changements climatiques). Toutefois, l'hydromorphie est moins présente en montagne où les sols bien drainés dominent, la radiation solaire diffère également fortement en raison de la différence de latitude, et les températures des sols alpins sont moins froides en hiver en raison d'une couche de neige plus épaisse et de températures moins froides (Edwards et al., 2007 ; Zhang et al., 2005). Les résultats plus nombreux sur les écosystèmes des hautes latitudes peuvent ainsi être extrapolés dans une certaine mesure aux écosystèmes alpins. Cependant la couche de neige plus épaisse dans les milieux alpins leur confère une caractéristique particulière. Zinger (2009) montre d'ailleurs dans sa thèse le rôle primordial du manteau neigeux dans la dynamique des populations microbiennes du sol. En étudiant les zones sous important couvert neigeux annuel (combes) et les zones sous faible couvert neigeux (crêtes), Zinger a montré que l'hiver constitue période déterminante pour la composition et l'activité de la microflore du sol. L'hétérogénéité du climat montagnard ajoutée à celle de la roche mère (variabilité géologique et topographique) crée une mosaïque de types de sols et d'habitats écologiques contrastés à l'échelle du paysage. De nombreux écosystèmes aux espèces et aux fonctions différentes trouvent leur place. Sur roche mère calcaire, les Rendzic Leptosols et les Chromic Leptosol dominent alors que sur roche siliceuse les lithiques Leptosol, les Dystric Cambisol et les Spodosols sont communs (Sjögersten et al., 2011 ; WRB 2014). La variabilité saisonnière extrême du climat dicte le fonctionnement du sol de ces milieux. A travers la productivité des végétaux et les suppressions biotiques, la dynamique saisonnière climatique marquée peut exercer une forte influence sur le cycle du C (Torn et al., 2009).

2.2. Les stocks de C organique des sols de montagne et leur stabilité

Les sols de montagne couvrent 4×10^6 km² à travers le monde (Körner, 2003). En zone tempérée, ce sont les sols montagnards qui montrent les plus forts stocks de C organique (Martin et al., 2011). Les faibles taux de décomposition liés aux basses températures expliquent majoritairement l'accumulation nette de C organique dans ces sols, malgré la relativement faible productivité primaire des écosystèmes montagnards. Sjögersten et ses collaborateurs (2011) ont réalisé une synthèse des quantités de C organique stockées dans les sols de montagne et leurs principaux mécanismes de stabilisation. Globalement, les stocks de C organique des sols de montagne sont compris entre 54 et 278 t C.ha⁻¹ et sont de ce fait comparables aux stocks de C organique des sols de hautes latitudes (boréaux et toundra) (Jobbágy et Jackson 2000). Les principaux facteurs influençant les stocks de C organique des sols de montagne sont le climat, la roche mère et la végétation. Les stocks de C organique augmentent d'ailleurs avec l'altitude (3.1 t C.ha⁻¹/100m en prairie et 4.5 t C ha⁻¹/100m pour les forêts).

Les mécanismes de protection de la MOS montrent une évolution avec l'altitude. Il a été montré que la quantité de C trouvée dans la fraction de MO particulaire (MOP), non associée avec les minéraux augmente avec l'altitude. Dans les prairies alpines situées entre 2200m et 2700m, 40 à 60 % de la MOS se retrouve sous la forme de POM (Leifeld et al., 2009a ; Budge et al., 2010). Ces teneurs décroissent avec la diminution de l'altitude : pour les prairies situées entre 400 m et 1600 m, 10 à 30 % de la MOS est sous forme de POM. Les raisons de cette accumulation de POM avec l'altitude résultent principalement de l'absence d'activité de décomposition due aux contraintes climatiques qui augmentent avec l'altitude. L'hypothèse d'une production primaire de MO récalcitrante et difficile à décomposer est également émise mais interviendrait de manière secondaire (Leifeld et al., 2009; Baptist et al., 2010). Etant essentiellement stabilisés par des facteurs climatiques, les stocks de C organique des sols de montagnes pourraient être hautement vulnérables aux changements climatiques en cours et à venir (Sjögersten et al., 2011 ; Saenger et al., 2013, 2015). Ils pourraient ainsi devenir une importante source de carbone atmosphérique. Comme indiqué plus haut, les régions montagnardes sont susceptibles d'être plus fortement impactées que les régions tempérées de plaine (Meehl et al., 2007). Par exemple, la chaleur et la sécheresse extrême observées en 2003 a converti une prairie alpine qui agissait comme puits de C en source nette de C (Baronti et al., 2005).

Les prairies sont un des type de végétation les plus répandus à travers le monde avec 9 millions de km² pour les prairies tempérées (Genxu et al., 2002). Dans les prairies suisses, plus de 58% du C est stocké dans les prairies d'altitude supérieures à 1000m (Leifeld et Kögel-Knabner, 2005). Les prairies ouvertes subissent de manière plus forte les variations du climat, comparativement aux pâturages boisés. En effet le rôle tampon que joue la canopée n'y est pas exercé. Gavazov (2013) a montré la plus forte sensibilité des prairies ouvertes suisses aux changements climatiques. Nous ne disposons pas aujourd'hui de suffisamment d'informations sur les facteurs qui influencent la décomposition de la MOS des sols montagnards. Ces informations sont nécessaires pour pouvoir prédire le futur caractère de puits ou de source de C des sols montagnards face aux changements climatiques qui affectent les zones de montagne (Budge et al., 2011).

IV. Comment simuler un changement climatique du sol ?

1. Quelles sont les méthodes pour reproduire l'hétérogénéité du climat ?

Nous avons vu dans la section précédente que parmi les différents facteurs de formation des sols de Jenny (1994), le climat est un déterminant principal de la régulation des sorties et entrées de C du sol. En effet, les conditions climatiques influencent la quantité de biomasse aérienne et souterraine produite par les végétaux (entrées de C au sol), ainsi que les mécanismes de stabilisation de la MOS et l'activité de décomposition microbienne (sorties de C des sols). Un des enjeux majeurs du 21^{ème} siècle est de prédire et comprendre les répercussions engendrées par le changement climatique sur le fonctionnement du sol, et notamment sur le stockage de C organique dans les sols. De fait, les effets des changements climatiques ainsi que ceux liés à l'augmentation de la concentration en CO₂, doivent être expérimentés. Pour ce faire, de nombreuses méthodes expérimentales ont été développées. Elles ont pour but de reproduire le fonctionnement d'un écosystème dans des conditions climatiques futures afin d'anticiper et de comprendre les effets de tels changements sur les services rendus par les sols comme notamment leur service de régulation du climat via leur capacité de stockage de C organique. Les expérimentations liées aux effets de l'augmentation

de la teneur en CO₂ atmosphérique ont été considérées comme étant suffisamment nombreuses (Woodward, 2007) comparées à celles liées directement aux manipulations climatiques. De nombreux efforts de recherche portent ainsi actuellement sur des expérimentations de simulation des changements climatiques à venir dans les différentes régions du globe. Toute la difficulté réside à simuler, de la manière la plus juste possible, les conditions climatiques prévues par les scénarios de changements climatiques, en s'assurant de perturber au minimum le fonctionnement « naturel » de l'écosystème. Hormis le climat, il s'agit en effet de maintenir les autres facteurs de formation des sols (géologie, topographie, organismes vivants, activités humaines ; Jenny 1994) constants, afin d'éviter les effets confondants.

La modification des paramètres climatiques a un impact non négligeable sur le fonctionnement du sol (Kaplan et al., 2012). Ces paramètres sont la température et l'humidité du sol et leur variabilité temporelle. Ainsi, les changements climatiques prédits devraient modifier la température et les précipitations annuelles reçues par un écosystème (Meehl et al., 2007 ; Intro chap III) mais également leurs distributions temporelles (saisonniers, journalières, etc.).

La diminution de la durée de la couverture neigeuse par exemple sous l'effet de l'augmentation annuelle de la température aérienne peut augmenter le nombre de jours de gel du sol au cours de l'année, et également altérer les processus qui régulent le taux d'humidité du sol (Groffman et al., 2001 ; Edwards et al., 2007). Toutes ces modifications climatiques ont un impact sur les processus biogéochimiques du sol. Il est donc crucial de développer des expérimentations climatiques qui permettent de simuler les scénarios climatiques prévus et d'intégrer leurs variabilités temporelles.

Plusieurs approches expérimentales ont ainsi été développées. Lors de ces expérimentations, les conditions climatiques sont modifiées soit directement sur le terrain (*in situ*) soit en conditions contrôlées (en laboratoire). L'objectif est de comprendre finement le rôle des conditions climatiques et de leur évolution afin de pouvoir modéliser la réponse des processus du sol, et *in fine* la capacité des sols à fournir les services écosystémiques attendus.

1.1. Approches en laboratoire

La démarche consiste à prélever du sol sur le terrain pour reproduire en conditions climatiques contrôlées le fonctionnement d'un système vivant. La culture en microcosme, permet un contrôle parfait des conditions climatiques simulées et facilite le monitoring des réactions du système étudié. De plus, cette démarche permet de simplifier le système étudié en contrôlant/normalisant certains paramètres (Bradford et al., 2010). Ainsi, l'effet de la variable climatique étudiée peut être isolé pour mieux comprendre son effet direct sur les processus du sol (e.g. discriminer les effets de la température des effets de l'humidité). Cependant, ce genre de manipulation perturbe en général fortement le fonctionnement de l'écosystème par rapport à son état naturel. Les manipulations en laboratoire exigent le prélèvement des sols étudiés et leur transport au laboratoire. De plus, mis à part les études sur microcosmes intacts, la structure du sol est souvent modifiée, voire détruite par tamisage ce qui change considérablement le fonctionnement du sol qui est un système très structuré à son état naturel (Six et al., 2004). Parfois, différents horizons du sol sont même mélangés lors de la construction des microcosmes, générant ainsi des processus qui ne pourraient pas avoir lieu dans la nature. Les expérimentations en laboratoire permettent de contrôler finement les variables climatiques et d'en suivre les effets variables réponses. Les processus en jeu sont donc plus facilement identifiables mais ils sont souvent divergents par rapport aux résultats observés directement sur le terrain (Aronson et McNulty, 2009). Leur représentativité des systèmes naturels reste limitée. Cependant, de nouvelles méthodes d'expérimentation climatique appelées Ecotron permettent de confiner les écosystèmes dans des enceintes totalement ou partiellement étanches. Ce type d'infrastructure à l'interface expérimentation en laboratoire *in situ* permet non seulement un contrôle des modifications environnementales appliquées mais également de mesurer des processus générés par les êtres vivants présents dans ces écosystèmes (flux de matière et d'énergie). En France, deux écotrons sont mis en place : l'Écotron Européen de Montpellier et l'Écotron Ile De France (<http://www.cnrs.fr/inee/outils/ecotrons.htm>).

1.2. Expérimentations *in situ*

La démarche consiste à modifier les conditions climatiques directement sur le site soit par des méthodes de manipulation climatique (serres, tube chauffants, etc.) soit à déplacer un échantillon (transplantation) dans un milieu présentant des conditions climatique différentes. Sur le terrain, les températures peuvent être modifiées soit de manière passive en utilisant un réchauffement par effet de serre (réflexion du rayonnement infrarouge), soit active, en utilisant du matériel permettant un apport énergétique sous forme de chaleur (infrarouge, câbles chauffants, etc.) (Tableau. 1). Le réchauffement actif peut être apporté directement au sol ou à l'atmosphère. La démarche adoptée sera choisie en fonction de plusieurs paramètres tels que, l'écosystème considéré, son isolement énergétique, le budget alloué, la puissance du réchauffement voulue, la durée de l'expérimentation. La température n'est pas le seul facteur manipulé, les précipitations peuvent être altérées pour simuler les effets des sécheresses ou de la diminution du couvert neigeux (Steinweg et al., 2013 ; Tan et al., 2014 ; Santonja, 2014). Ces expérimentations sont peu nombreuses comparées à celles qui traitent de l'augmentation de la température mais sont indispensables pour comprendre le rôle de la teneur en eau, facteur clé des échanges au sein du sol. Les expériences climatiques de terrain ont l'avantage de pouvoir être laissées en place plusieurs années (>10 ans (Frey et al., 2008 ; Rinnan et al., 2007) afin d'étudier les réponses des écosystèmes sur le long terme. Ce sont généralement des expériences peu coûteuses (surtout passives) et nécessitant peu de main d'œuvre après l'installation initiale de l'expérimentation (elle dépend fortement du type d'expérimentation mise en place). Il est à noter cependant, que les méthodes déployées peuvent perturber le fonctionnement de l'écosystème par rapport à son état naturel. Par exemple, une serre peut être une barrière aux pollinisateurs ou aux herbivores, modifier la couverture neigeuse et les spectres lumineux. L'ensemble de ces artefacts expérimentaux a un impact sur le fonctionnement du système et il est donc primordial de réaliser des expériences contrôles qui évaluent les impacts de l'expérimentation seule.

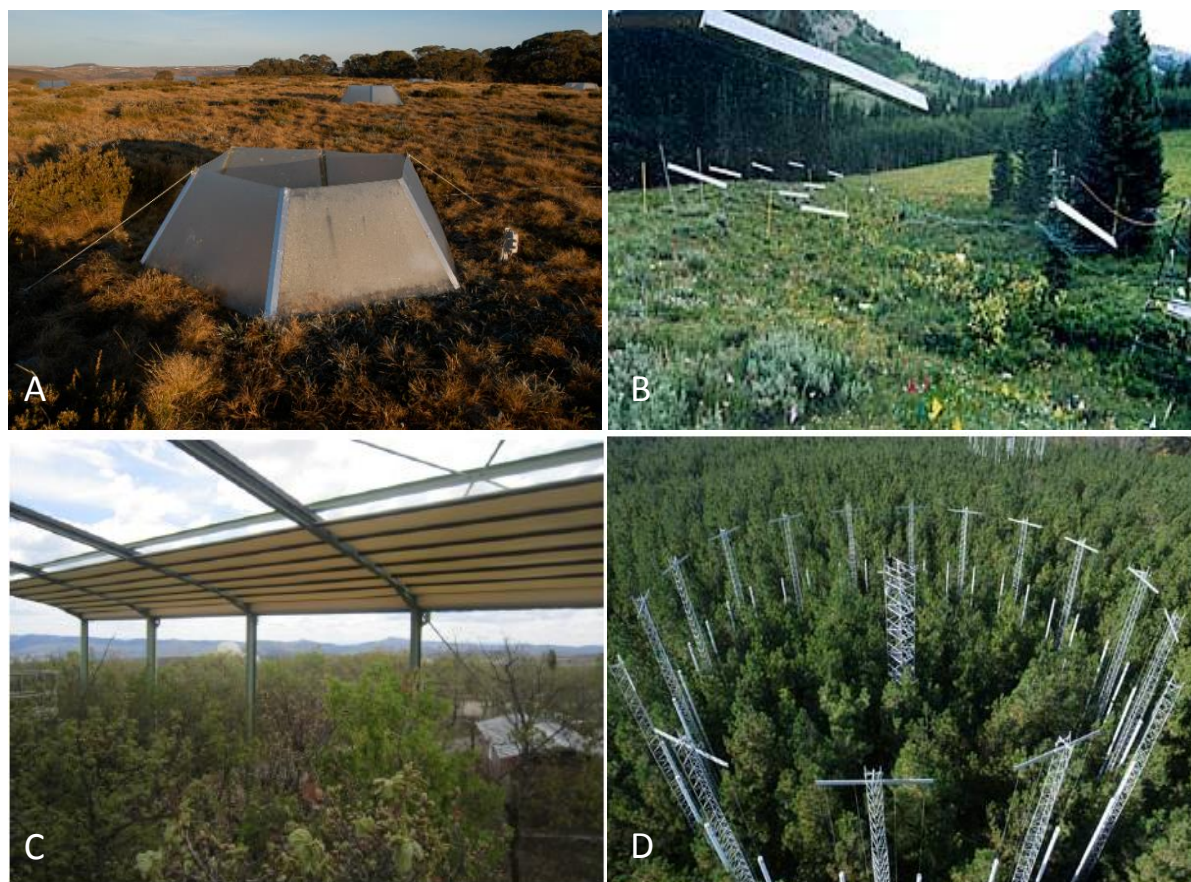


Figure.22 : Méthodes d'expérimentations de changements climatiques. (A) Chambre à effet de serres (Hoffmann et al., 2010), (B) Réchauffement induit par rayonnement infrarouge (Harte et Shaw, 1995), système d'exclusion de pluie (O3HP ; Santonja, 2014) , (D) Augmentation de la concentration en dioxyde de carbone atmosphérique (CO₂) (Ainsworth et Long, 2004)

Méthode	Type de réchauffement	Mécanismes de réchauffement	Avantages	Inconvénients	Exemples
Effet de serre	Passif	Réchauffement par effet de serre (réflexion du rayonnement IR et réduction des pertes thermiques par déplacement horizontal)	Elle est simple et peu chère. Elle ne nécessite aucune source d'énergie	Très peu de contrôle sur la température. Grande variabilité de la température. Nombreux artefacts tels que la modification de la luminosité, du vent, de l'humidité et du régime des précipitations	Chapin et al., 1995 ; Shaver et al., 1998 ; Jonasson et al., 1999 ;
Serre ouverte	Passif	Identique à la méthode précédente	Identique à la méthode précédente. Les précipitations sont bien moins altérées	Identique à la méthode précédente exceptée pour les précipitations. Seules les petites surfaces peuvent être traitées uniformément	Marion et al., 1997; Arft et al., 1999 ; Rinnan et al., 2007 ; Deslippe et al., 2005 ; Hollister et al., 2006 ;
Serres ouverte + réchauffement actif	Passif/actif	Identique aux méthodes précédentes et réchauffement par câbles électriques chauffants	Contrôle précis de la température aérienne ou de la différence de température. Peut être combiné avec un contrôle de la teneur en CO2	Modifie le régime des vents, l'humidité et l'évapotranspiration	Norby et al., 1997 ;
Réchauffement actif du sol	Actif	Réchauffement par câbles chauffants enfouis dans le sol	Contrôle précis de la température du sol. Peut être combiné avec le réchauffement par serre	Modifie l'humidité du sol. Pas d'effet sur les températures aériennes. Perturbe la structure du sol	Peterjohn et al., 1994 ; Ineson et al., 1998b ; Hartley et al., 1999 ; Schindlbacher et al., 2011 ; Frey et al., 2008 ;
Chaleur infrarouge électrique	Actif	Réchauffement par radiations infrarouges	Contrôle précis de l'énergie imputée. Simulation directe du changement global (équilibre énergétique)	Le réchauffement dépend entièrement des radiations. Pas d'influence des mouvements atmosphériques, réchauffement constant et continu	Harte et al., 1995 ; Harte et Shaw 1995 ; Zhang et al., 2005 ; Steinweg et al., 2013 ; Bell et al. 2010, Jing et al. 2013 ;
Transplantation	Passif	Utilisation de l'hétérogénéité spatiale des conditions climatiques. Transplantation de sols intacts avec leur biomasse aérienne (plante + sol)	Températures et précipitations naturelles	Perturbation due à la transplantation. Pas de contrôle direct sur les conditions climatiques. Changements d'autres facteurs (contamination d'espèces, UV, etc.)	Ineson et al. 1998a ; Grogan et Chapin, 2000 ; Budge et al. 2011 ; Djukic et al. 2013 ; Vanhala et al. 2007 ; Gavazov et al. 2013 ;

Tableau.1 : Comparaison de différentes méthodes de manipulation de réchauffement climatique de terrain. Tableau adapté à partir de Shaver et al., 2000

En raison de la grande variété des méthodes utilisées pour induire un changement climatique, il est parfois difficile de comparer les résultats obtenus (Aronson et McNulty 2009). Parmi l'ensemble des méthodes proposées, les radiateurs infrarouges sont les plus faciles à mettre en place et les plus précis quant au réchauffement apporté au système. Les dispositifs les moins chers sont les serres ouvertes (Aronson et McNulty 2009). La transplantation de sol présente l'avantage de simuler un climat de manière totalement naturelle. Cette méthode permet donc de reproduire l'énorme variabilité temporelle du climat ce qui n'est pas le cas d'un réchauffement continu (rayonnement infrarouge, câbles chauffants). En contrepartie, lors de la transplantation, le contrôle de l'intensité du changement climatique est peu régulé. En outre la transplantation peut perturber le fonctionnement du système étudié. De plus, des contaminations (abiotiques et biotiques), une augmentation de la pression atmosphérique ainsi qu'une évolution du spectre lumineux (UV) peuvent altérer le fonctionnement du système étudié.

Pour tirer parti des différents avantages de chaque méthodes certaines études les associent. Sun et al. (2013) utilisent ainsi un système de serre ouverte combiné avec un réchauffement direct du sol par câbles chauffants dans le cadre d'une étude portant sur les effets du changement climatique sur les prairies arctiques. Bruns et al., 2013, combinent un réchauffement passif par réverbération du rayonnement infrarouge la nuit et un système automatique permettant d'ouvrir le système en cas de précipitations.

Parmi les méthodes de manipulation climatique, la transplantation de sol ne permet pas un contrôle parfait des conditions climatiques simulées. De plus, le prélèvement de sols peut être perturbateur pour le fonctionnement du système étudié. Cependant, cette méthode fournit l'avantage de simuler un climat de manière totalement naturelle. Ainsi l'effet de la variabilité temporelle et naturelle du climat peut être observé. Les effets possibles de synergie dus à la variation de la température et l'humidité sont également présents.

2. Dispositif de simulation climatique utilisé dans cette thèse

2.1. Contexte de l'étude

Le dispositif utilisé dans cette thèse pour étudier les effets des changements climatiques sur la dynamique du SOC est une **transplantation altitudinale de sols**. Cette expérimentation climatique a été mise en place en 2009 par le laboratoire ECOS (EPFL, Lausanne, Suisse) dans le cadre du projet Mountland (http://www.wsl.ch/info/fokus/schutzwald/mountland/index_FR). Ce projet étudie l'influence des évolutions possibles du climat et de l'utilisation des sols sur les services écosystémiques des régions de montagne. Les changements globaux pourraient compromettre la capacité de ces écosystèmes à fournir de nombreux services écosystémiques tels que la production de biomasse et la régulation du climat via le stockage de carbone organique dans les sols. C'est dans ce contexte que plusieurs dispositifs de simulation climatique ont été développés en Suisse afin d'anticiper l'évolution de ces paysages et d'adopter une politique de développement durable. Cette thèse se focalise sur l'expérimentation mise en place dans le Jura Vaudois en 2009 qui étudie les effets des changements climatiques sur les prairies subalpines. Dans le cadre de sa thèse, Gavazov (2013) a évalué la résistance des communautés végétales de cet écosystème aux changements climatiques simulés en fonction de différents types de gestions des prairies subalpines (prairie ouverte, prairie semi-ouverte, prairie fermée) (Gavazov, 2013). Les résultats montrent que la végétation des prairies ouvertes subalpines est la plus sensible à la manipulation climatique. Cette thèse se propose de compléter les investigations de Gavazov (2013), en étudiant de manière plus poussée les processus du sol liés à la dynamique du C organique du sol. Il a été décidé, en raison des contraintes logistiques, de focaliser l'effort de recherche concernant la dynamique du C des sols sur les dispositifs de prairies subalpines ouvertes qui sont les plus impactées par le changement climatique (modifications significatives de la biomasse et des communautés végétales).

2.2. Détails de la transplantation altitudinale de sols

L'écosystème étudié est une prairie subalpine localisée au cœur du parc Jurassien Vaudois (N 46°54', E 6°23', 1350 m) (Fig.23). Le paysage typique composé d'alternances d'îlots forestiers et de pâturages a été façonné depuis plusieurs siècles par les activités humaines. Le tourisme y est fortement développé, allongeant la liste des nombreux services écosystémiques rendus par ces paysages subalpins. Les arbres dominants sont essentiellement *Picea abies* et dans une moindre mesure *Fagus sylvatica* et *Acer pseudoplatanus*. Une très grande diversité de plantes vasculaires (40 espèces par m²) est présente avec une dominance des espèces graminéoïdes (*Agrostis capillaris* et *Festuca rubra* aggr.) (Dufour et al., 2006). Le climat est considéré comme océanique froid. Il est donc caractérisé par d'importantes précipitations annuelles (MAP : 1730 mm) et une température annuelle moyenne relativement froide (4.5° C) (Source : Météo Suisse). La couverture neigeuse recouvre ce paysage environ 6 mois de l'année avec des quantités de l'ordre de 400 mm équivalant neige par an. Le sol se développe sur une roche mère calcaire. Le processus de pédogénèse est déjà avancé car l'horizon A superficiel est décarbonaté (0-10 cm, pH: 5.5). Il s'agit d'un Hypereutric Cambisol selon la classification (IUSS Working Group WRB, 2014 ; Association française pour l'étude du sol, 2008).

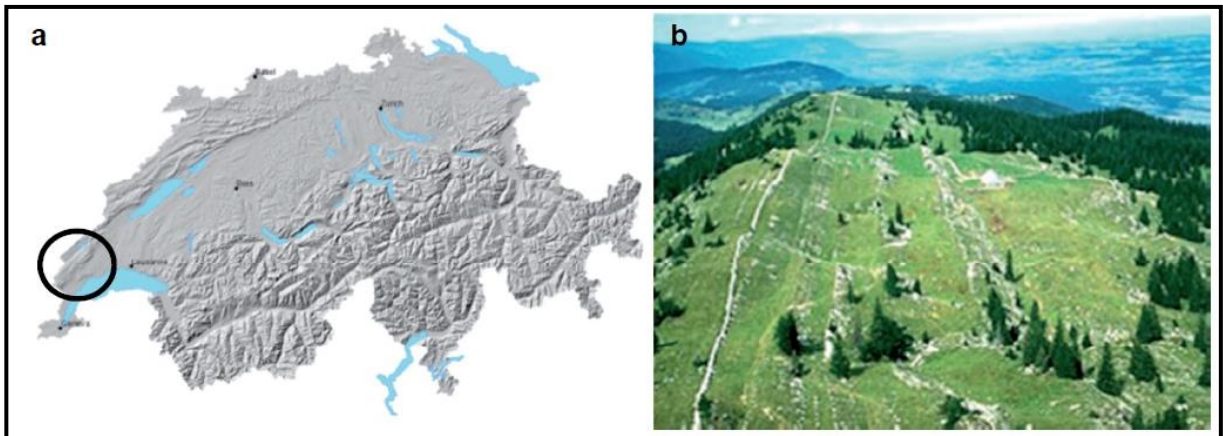


Figure.23: Localisation du site d'étude (a) et photo traditionnelle du paysage des crêtes du Jura Vaudois (Gavazov, 2013).

Afin de simuler un climat annuel plus chaud et plus sec, la variation naturelle du climat le long d'un gradient altitudinal a été exploitée (Körner, 2007). Ce choix permet de prendre en

compte toute la variabilité annuelle du climat telle que des événements extrêmes (sécheresses, fortes gelées, etc.) qui ne seraient pas pris en compte avec une expérimentation artificielle de simulation climatique. Le site des Amburnex (N 46°54', E 6°23') représentatif des prairies des crêtes du Jura Vaudois a été choisi comme site de prélèvements. Il est situé à une altitude de 1 350 m. Deux autres sites ont été sélectionnés, le site Saint George situé à 1 010 m (N46°52', E6°26') ainsi que le site de l'Aboretum d'Aubonne situé à 570 m (N46°51', E6°37'). Ces trois sites ont été choisis pour accueillir les transplants de sols.

En 2009, sur le site des Amburnex (1 350 m), des blocs de sol (20 x 20 x 30 cm) incluant leur végétation ont été prélevés de manière randomisée. Ces blocs de sols ont ensuite été transférés dans des lysimètres (12 par lysimètre). Les lysimètres, en PVC, ont des dimensions de 60 x 80 x 35 cm, incluant 5 cm de gravier au fond laissant percoler l'eau et permettant de la récupérer. (Fig.24).



Figure.24 : Dispositif mis en place pour prélever les sols avant transplantation

Les lysimètres de sol ont ensuite été transplantés dans trois sites à altitudes décroissante (Fig.25). Le premier est le site d'origine (les Amburnex). Cette transplantation des sols sur leur site d'origine permet d'obtenir un contrôle de l'expérimentation afin de prendre en compte l'effet perturbateur des prélèvements, ainsi que de la conception et de l'installation des lysimètres sur le fonctionnement du sol. Cinq lysimètres ont donc été installés à 1350 m d'altitude. Ces lysimètres sont enfouis dans le sol pour éviter tout échange de chaleur avec l'atmosphère hormis celui de la surface. Afin de simuler un premier scénario correspondant à un changement climatique modéré (Scénario IPCC A1B ; augmentation modérée des concentrations atmosphériques de GES), cinq lysimètres ont été transplantés sur le site Saint George (1 010 m). Cette transplantation permet de simuler une augmentation de la température annuelle moyenne de 2° C et une diminution des précipitations annuelles

moyennes de l'ordre de 20 %. Enfin, cinq lysimètres ont été transplantés sur le site Arboretum d'Aubonne (570 m) permettant de simuler une augmentation de la température annuelle moyenne de 4° C et une diminution des précipitations annuelles moyennes de l'ordre de 40 %. Ce changement climatique simulé correspond à une augmentation élevée des concentrations atmosphériques en GES (Scenario IPCC A2).

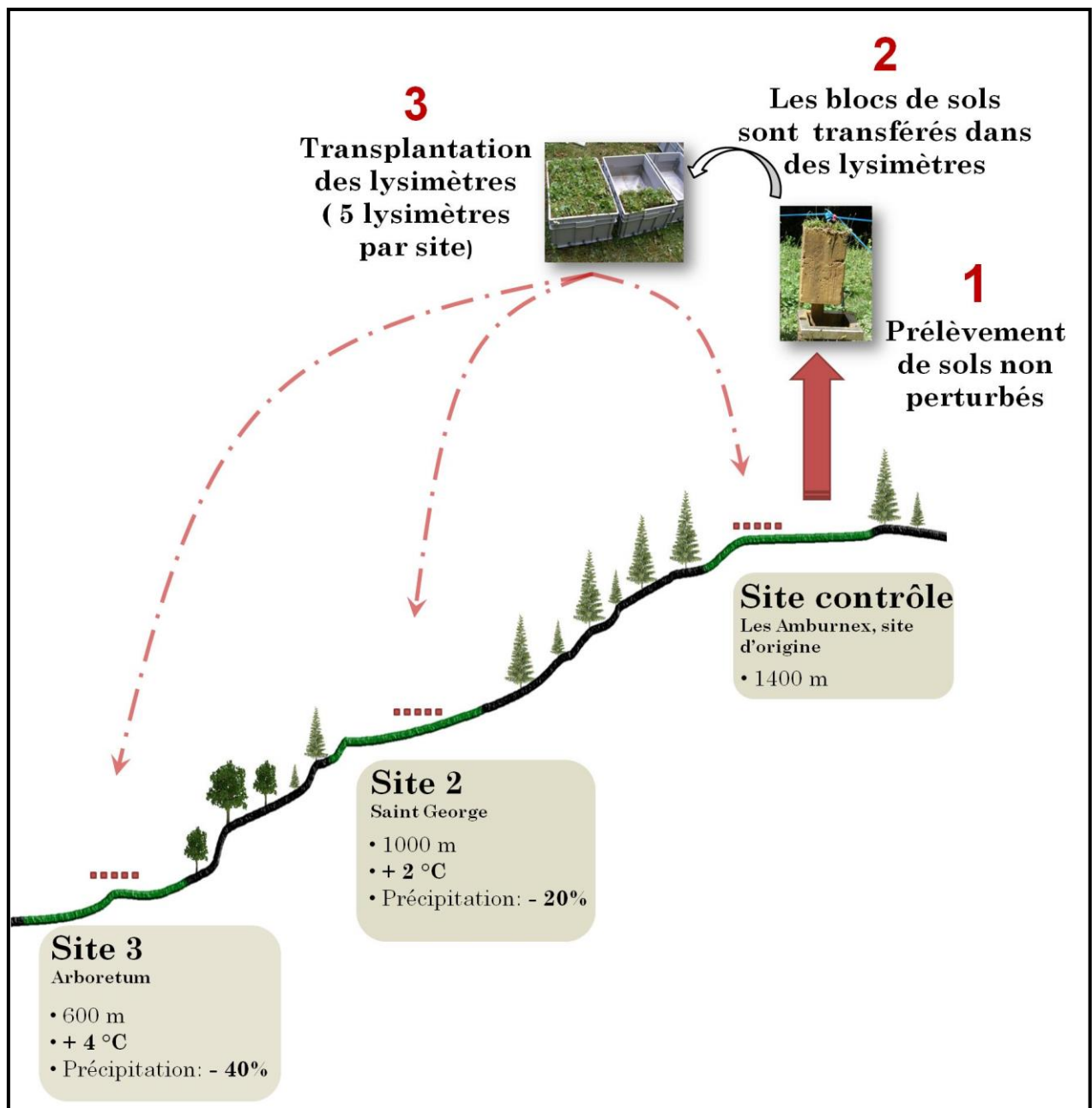


Figure.25: Dispositif expérimental utilisé dans le cadre de cette thèse. Simulation de deux scénarios de changement climatique par transplantations de sols d'une prairie subalpine dans le jura suisse (proche de Lausanne).

Expérimentation réalisée dans le cadre du projet Mountland (<http://www.cces.ethz.ch/projects/sulu/MOUNTLAND>)

Surveillance des conditions climatiques :

Chaque lysimètre est équipé d'une sonde de mesure de la température du sol (ECH20 EC-TM) ainsi que de l'humidité (Data loggers, Dacagon Devices, Inc, USA). Ces sondes sont installées dans l'horizon A (3 cm de profondeur). Les données pédoclimatiques sont mesurées et enregistrées chaque minute. De plus sur chaque site, une station météorologique automatique mesure la température atmosphérique, le taux d'humidité atmosphérique à 2 m au-dessus du sol et la quantité de précipitations.



Figure.26: Dispositif expérimental sur les trois sites de transplantation. Les lysimètres non recouverts par une grille (noire ou verte) interceptant la lumière, correspondent aux lysimètres étudiés (prairies subalpines ouvertes)

2.3. Campagnes d'échantillonnages menées au cours de cette thèse

Cette thèse étudie les effets d'une manipulation climatique au bout de 4 ans d'expérimentation. A l'échelle de la dynamique du C organique dans les sols, ce temps d'expérimentation correspond à un temps considéré comme du court à moyen terme. Il a été montré que certains processus du sol ont une réponse aux changements climatiques bien au-delà de ces temps d'expérimentation (> 10 ans, ex: communautés microbiennes ; Budge et al., 2011b ; Rinnan et al., 2007). Les résultats de cette thèse doivent prendre en compte cette limitation due à une durée d'expérimentation relativement courte.

Campagnes de prélèvements	Dates	Prélèvements de sols	Analyses réalisées	Résultats
Été 2012	25/07/2012	Prélèvements effectués sur l'ensemble des lysimètres de l'expérimentation climatique (5*3*3 =45) pour (5 lysimètres par site 3 sites et 3 modes de gestion), profondeur (0-10cm).	Premiers tests enzymatiques (0-10cm) incluant les trois modes de gestion des terres simulés dans l'expérimentation de transplantation (Mountland)	Confirmation des résultats obtenus par Gavazov (2013): Plus forte sensibilité du mode de gestion "prairie ouverte" face aux changements climatiques simulés par la transplantation --> Mode de gestion choisis dans cette thèse
Suivi annuel 2012-2013:	Prairies ouvertes uniquement:			
Automne 2012	23/11/2012	Prélèvements effectués sur les profils de sol de surface (0-10cm), carottes de 5 cm de diamètres, 15 prélèvements (5 par site)	Analyses microbiennes (activités enzymatiques) Analyses de sol classiques (C, N, pH, CEC, Ca) Analyses spectroscopique Infra rouges (Sol total)	
Hiver 2013	20/02/2013	Prélèvements effectués sur les profils de sol de surface (0-10cm) carottes de 5 cm de diamètres, 15 prélèvements (5 par site) + Prélèvement de 20 g de sol (0-10cm) pour le site contrôle (1370m), et le site le plus bas (570m). 10 sols prélevés (5 par sites) Les sols sont tamisés sur place et conservés directement à -79°C	Analyses microbiennes (activités enzymatiques, biomasse microbienne, structure des communautés microbiennes (PLFAs)) Analyses de sol classiques (C, N, pH, CEC, Ca) Protocole de fractionnement de sol (WEOC, freePOM, occPOM, MAOM) Analyses spectroscopiques Infra rouges (Sol total, freePOM, occPOM, MAOM) Spectroscopie UV (WEOC)	Chapitre 1, 2 et 3 de cette thèse
Printemps	27/05/2013	Identiques à l'Automne 2012	Identiques à l'Automne 2012 + Biomasse microbienne	
Été	02/09/2013	Identiques à l'Hiver 2013	Identique à l'Hiver 2013	
Été 2014	23/07/2014	Prélèvements effectués sur les profils de sol de surfaces et de profondeurs (0-5cm; 5-10cm; 10-15cm; 15-30cm), carottes de 5 cm de diamètres, 15 prélèvements (5 par site et 4 profondeurs)= 60 échantillons	Analyses de sol classiques (C, N, pH, Ca) Densités apparentes --> Stocks de Carbone	Chapitre 3 de cette thèse

Tableau.2 : Ensemble des campagnes de terrains et analyses réalisées lors de cette thèse

Plusieurs campagnes de prélèvements de sols ont réalisées sur le dispositif de manipulation climatique (Tableau 2) au cours de cette thèse. Il s'agit de :

➤ Eté 2012

Campagne d'échantillonnage réalisée sur l'ensemble des lysimètres (prairies ouvertes, semi ouvertes et fermées) afin de réaliser des analyses en amont pour confirmer le choix d'utiliser le mode de gestion "prairie ouverte" pour la suite du travail de thèse (données non présentées dans cette thèse).

➤ Campagne de terrain de Novembre 2012 à Septembre 2013

Afin de prendre en compte la variabilité climatique annuelle caractéristique du climat des prairies subalpines, un choix précis des dates d'échantillonnage a été défini. Le but a été de définir 4 dates de prélèvements représentatives des quatre saisons étudiées. L'échantillonnage s'est étalé de Novembre 2012 à Septembre 2013. La première date de prélèvement (23 Novembre 2012) correspond à la fin de l'automne avant l'arrivée du couvert neigeux sur le site contrôle. La deuxième date (20 Février 2013) se situe au cœur de l'hiver, au moment où le manteau neigeux est le plus important (1.70 m d'épaisseur sur le site contrôle). La troisième date (27 Mai 2013) se situe juste après la fonte du manteau neigeux lors du début de la saison végétative. Enfin, la dernière date (2 Septembre 2013) est représentative de la fin de l'été quand le climat est encore défini par une chaleur importante et une faible quantité de précipitations.

A chaque campagne d'échantillonnage, le même protocole de prélèvements (Fig.27) a été mis en place au sein de chaque lysimètre. Après retrait de la végétation, un carottage de sol est réalisé dans chaque lysimètre (5 par site). Le cylindre prélevé mesure 10 cm de hauteur et 5 cm de diamètre. Enfin, les carottes de sols sont placées dans une glacière avant retour au laboratoire dans la journée (Fig.27). Les sols carottés sont tamisés à 2 mm au laboratoire avant analyses. Durant le tamisage, un soin particulier est fourni afin d'enlever les racines (Fig.28).



Figure 27 : Processus d'échantillonnage des sols

De plus, lors des dates correspondant à la saison hivernale et estivale, des prélèvements additionnels ont été réalisés afin d'étudier des paramètres supplémentaires dans le sol des lysimètres. En hiver et en été, 20g (0-10cm) ont été prélevés et tamisés directement sur le terrain avant d'être immédiatement stockés dans de la glace carbonique (-79°C). Ce mode d'échantillonnage était nécessaire pour étudier les communautés microbiennes. Le fait de les conserver immédiatement à -79°C permet d'obtenir une véritable "image instantanée" des communautés à un instant précis, sans évolution des communautés au cours du stockage.



Figure 28 : Tamisage des carottes de sol à 2mm, les racines sont préalablement mises à part.

➤ Campagne de terrain été 2014

Cette campagne de terrain a été effectuée afin d'évaluer les stocks de carbone des lysimètres en fin d'expérience (biomasse aérienne et souterraine, et stock de MOS à plusieurs profondeurs). Ainsi des carottes de 30 cm de profondeur (profondeur totale du lysimètre) ont été prélevées dans chacun des lysimètres.

V. Objectifs de cette thèse

L'objectif général de cette recherche est d'approfondir nos connaissances sur les relations entre conditions climatiques et dynamique du carbone organique des sols. Il s'agit d'évaluer l'effet des changements des conditions climatiques sur les processus qui stabilisent/déstabilisent la MOS en milieu de montagne. Pour ce faire, cette thèse s'appuie sur une expérimentation de transplantation altitudinale de sol, mise en place dans le Jura Suisse en 2009. Cette expérimentation permet de simuler deux scénarios de changements climatiques visant à réchauffer et assécher le climat.

Le premier objectif de cette thèse est d'estimer l'impact des conditions climatiques (effet d'une manipulation climatique mais également de la dynamique saisonnière) sur les mécanismes microbiens de décomposition de la MOS. Une étude intégrée de plusieurs mécanismes microbiens de décomposition de la MOS est ainsi réalisée au pas de temps saisonnier : suivi (i) de la quantité de microorganismes (biomasse microbienne), (ii) de la structure des communautés microbiennes (diversité des microorganismes), et (iii) du pool d'enzymes extracellulaires (EE ; activité de décomposition des microorganismes). Le deuxième objectif de cette thèse vise à améliorer notre compréhension des effets du climat sur la dynamique de la matière organique du sol, ressource énergétique des communautés microbiennes. Les quantités relatives et la chimie de plusieurs pools de C organique du sol présentant différents degrés de disponibilité à la décomposition microbienne sont suivies sur deux saisons au sein de la manipulation climatique. Le troisième objectif de cette thèse se décline en deux volets. Le premier est de mettre en évidence les liens entre acteurs microbiens de la décomposition et leurs ressources énergétiques (pools de C organique du sol), puis est de comprendre dans quelle mesure les conditions climatiques modifient ces liens. Le deuxième volet consiste à évaluer l'effet de 5 ans d'expérimentation climatique sur les stocks de C organique du sol, en lien avec la dynamique saisonnière du C organique observée durant la quatrième année d'expérimentation.

VI. Hypothèses de cette thèse

HYPOTHESE I : L'activité microbienne de décomposition de la MOS est fortement affectée par les fluctuations des conditions climatiques. Ces modifications sont liées à une profonde modification des quantités de microorganismes et de la structure des communautés microbiennes du sol.

HYPOTHESE II : La quantité et la chimie des différents pools de MOS sont altérées par les conditions climatiques. En raison de l'apport de MO fraîche, la saison estivale est caractérisée par une relative importance des pools les plus labiles. La manipulation climatique induit une dégradation préférentielle des pools de C organique du sol considérés comme labiles.

HYPOTHESE III : L'activité microbienne de décomposition est liée au degré de protection de la MOS, qu'il soit de nature physique ou de nature chimique. Les conditions climatiques saisonnières ou induites par la manipulation climatique induisent de profondes modifications des liens entre les microorganismes du sol et leur ressource énergétique.

Chapitre 1 : Effets des conditions climatiques sur l'activité microbienne de décomposition de la matière organique du sol en prairie subalpine

I. Introduction

Le premier chapitre de cette thèse est consacré aux effets du climat sur l'activité de la décomposition de la MOS (Fig.29). La décomposition est assurée par les microorganismes qui, par l'exsudation d'enzymes à travers le sol assurent leur nutrition en dépolymérisant la MOS afin de la rendre assimilable. En milieu aérobie, la décomposition microbienne de la MOS a pour produit final un C sous sa forme la plus oxydée (CO_2 , un important GES). Evaluer la réponse des activités enzymatiques microbiennes de décomposition aux changements climatiques est donc un enjeu majeur pour comprendre le rôle futur des sols dans la régulation du climat via l'évolution de son stock de C organique.

Ce chapitre se divise en deux parties. La première partie présente les enzymes extracellulaires (EE) du sol, leur rôle, leurs origines, leurs localisations, les méthodes de mesure ainsi que les facteurs qui régulent leurs activités. La deuxième partie est un article scientifique publié dans le journal « Soil Biology and Biochemistry » en Janvier 2015 qui présente les résultats d'une étude menée sur l'expérimentation de transplantation altitudinale de l'EPFL dans le Jura vaudois. Cet article décrit l'impact des changements climatiques (manipulation climatique et dynamique saisonnière) sur l'activité enzymatique microbienne de décomposition de la MOS en prairie subalpine de montagne.

Nous faisons l'hypothèse principale que l'activité enzymatique microbienne de décomposition de la MOS sera fortement affectée par les fluctuations des conditions climatiques (HYPOTHESE I). Nous faisons également l'hypothèse que les modifications de l'activité enzymatiques seront liées à une modification des communautés microbiennes du sol (biomasse et structure des communautés).

Afin d'estimer les effets des conditions climatiques (humidité et température du sol) sur l'activité enzymatique de décomposition de la MOS, des mesures sont réalisées au cours des quatre saisons annuelles et le long du dispositif de manipulation climatique mis en place :

- Les activités enzymatiques de huit enzymes liées au cycle du C, de l'azote (N) et du phosphore (P) ainsi qu'un indice d'activité microbienne globale (FDA)
- La structure des communautés microbiennes par extraction des PLFAs (seulement en été et en hiver pour le site contrôle des Amburnex (1350m) et le site le plus bas de l'arboretum d'Aubonne (570m))

- L'abondance des communautés microbiennes par extraction-fumigation au chloroforme (données non disponible en automne)

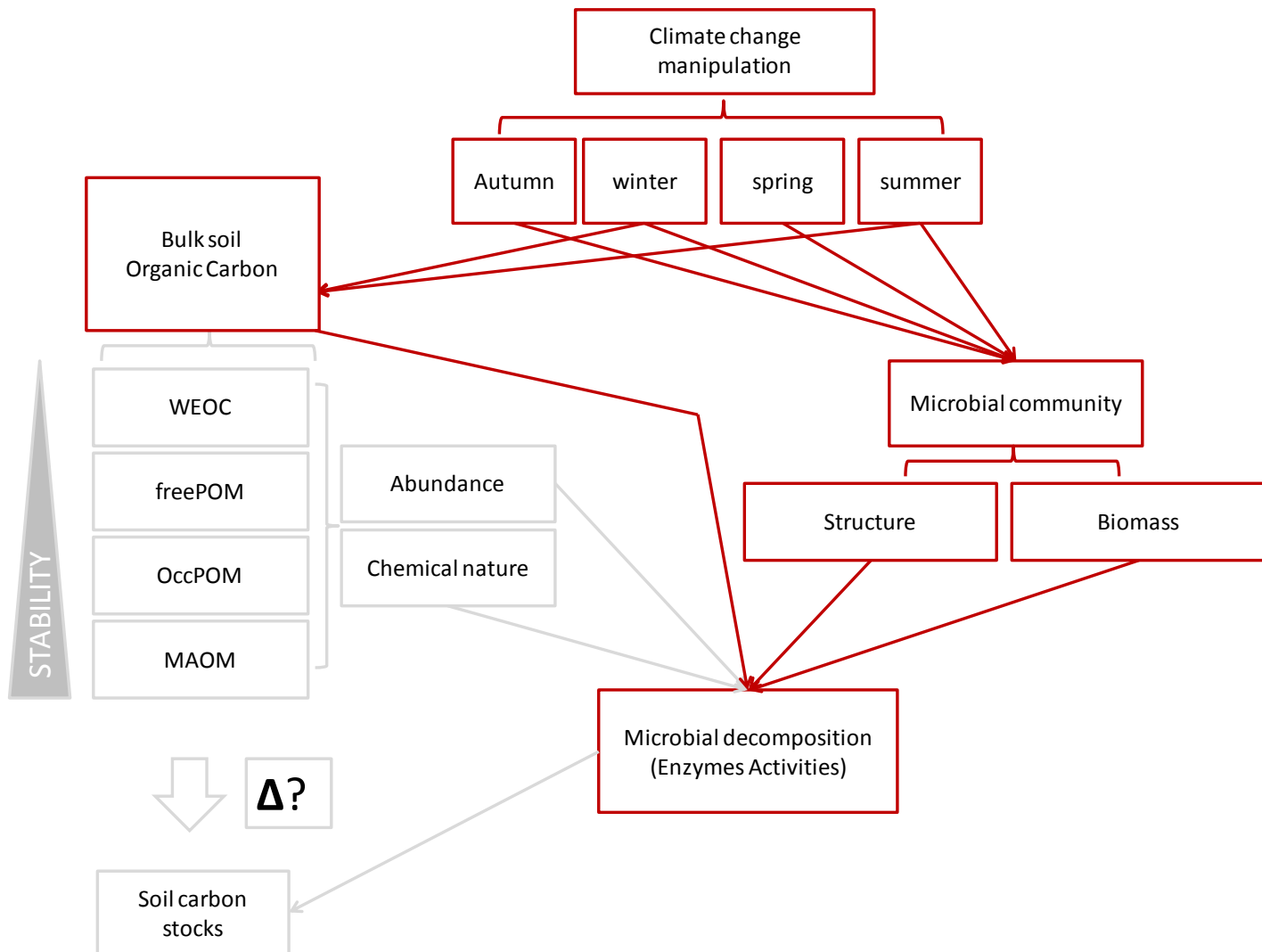


Figure.29 : Schéma de la démarche conceptuelle mis en place durant cette thèse pour l'étude des facteurs contrôlant la dynamique de décomposition des MO du sol. En rouge sont indiqués les éléments et les interactions étudiés dans le chapitre 1. WEOC : carbone organique dissous dans l'eau, représentant la fraction de la MO la plus labile. FreePOM : Matière organique particulaire libre signifiant qu'elle n'est pas protégée de la décomposition par les éléments

du sol. **OccPOM** : Matière organique particulaire protégée au sein des agrégats de sol. Cette fraction est protégée de la décomposition microbienne par protection physique à l'intérieur des agrégats de sol. **MAOM** : Matière organique associée au compartiment minéral. Cette fraction représente la fraction la plus stable car fortement protégée de la décomposition microbienne grâce aux interactions avec le compartiment minéral.

II. Les enzymes du sol : catalyseurs de la décomposition de la MOS

1. Les enzymes du sol : une recherche en plein essor

Protéines excrétées par les microorganismes du sol, les enzymes dégradent la MOS en catalysant de nombreuses réactions chimiques. Elles assurent ainsi la nutrition des microorganismes du sol en dégradant des macromolécules complexes en molécules simples, de petite taille, directement assimilables par les microbes. Les enzymes extracellulaires (EE) du sol sont par conséquent des agents clés qui régulent la dynamique de la MOS. Les stocks de C organique et les nutriments disponibles pour la productivité végétale sont ainsi directement dépendants de l'abondance et de l'activité des enzymes du sol. De plus, les EE régulent significativement voire totalement certaines étapes du fonctionnement des cycles biogéochimiques du C, N, P (Girard et al., 2011). Cependant malgré leur rôle essentiel dans le fonctionnement des sols, ces agents de décomposition ont été peu étudiés de manière approfondie (Gobat et al., 2010). Depuis quelques années, profitant des avancées méthodologiques, l'étude des EE du sol est en pleine croissance (Fig.30). De nombreux verrous méthodologiques ont été levés dans des secteurs parallèles profitant ainsi à l'écologie et à la biogéochimie des sols. Ces apports proviennent essentiellement de l'industrie (traitement du papier, stations d'épurations, production de biocombustibles, dégradation de polluants) et du secteur médical (Burns et al., 2013). De plus, la menace du changement climatique et de ses impacts sur les services rendus par le sol a stimulé les recherches sur les EE du sol. Ces recherches portent sur une meilleure compréhension de leur fonctionnement mais également sur la possibilité de les utiliser pour mettre en place des méthodes de séquestration de C dans les sols (Burns et al., 2013). Malgré ces nombreux progrès et

investissements de recherche, les EE n'en restent pas moins un « casse-tête conceptuel et méthodologique » (Gobat et al., 2010).

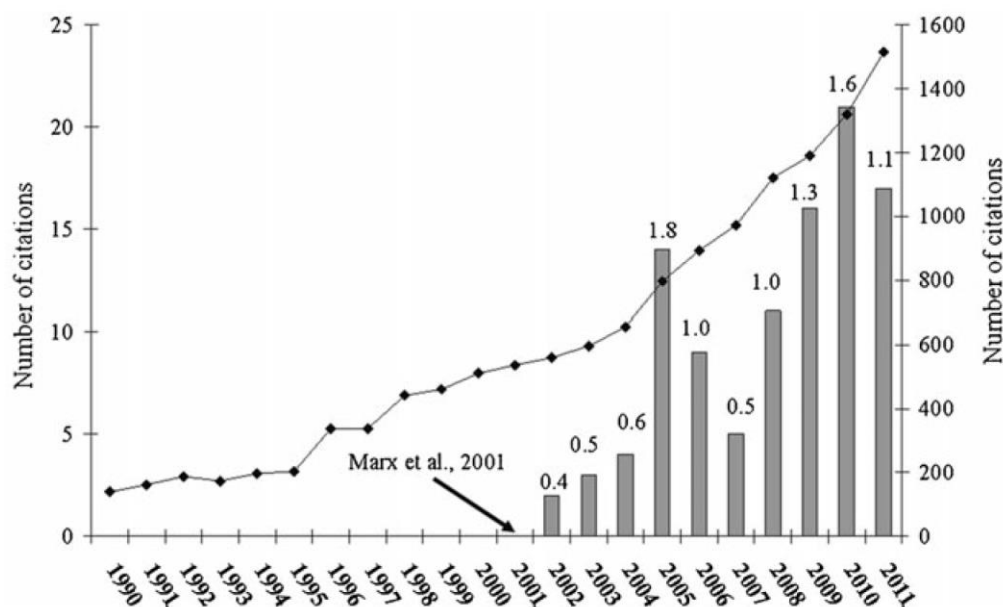


Figure.30 : Nombre de publications trouvées sur Scopus avec l'expression exacte : « soil enzymes ». Les histogrammes représentent le nombre d'études utilisant des fluorochromes (Nannipieri et al., 2012).

2. Une grande variété d'EE du sol pour satisfaire la complexité de la MOS

A travers la matrice du sol, les microorganismes diffusent des enzymes extracellulaires (EE) dépolymérisant la MOS en C assimilable, leur permettant ainsi d'acquérir de l'énergie et des nutriments indispensables à leur croissance et leur survie. La production d'EE peut être vue comme une stratégie de recherche de nourriture développée par les microorganismes du sol où la production d'EE serait ajustée en fonction de leurs besoins en énergie et en nutriments (Burns et al., 2013). De nombreuses EE différentes sont sécrétées à travers le sol afin d'être en mesure de dépolymériser la très grande diversité de molécules qui composent la MOS. Comme on l'a vu dans l'introduction de cette thèse, le C organique du sol se trouve principalement sous forme d'un mélange de biopolymères tels des polysaccharides (e.g. cellulose), des composés aromatiques (e.g. lignine) et aliphatiques (e.g. polyéthylène). L'azote organique quant à lui se trouve principalement sous forme de peptides et le phosphore sous forme de mono ou diester (Caldwell, 2005). L'ensemble des composés organiques du sol

est dégradé par des réactions enzymatiques spécifiques (Tableau 3 ; Gobat et al., 2010). Les deux principales familles enzymatiques qui interviennent dans la décomposition de la MOS sont les hydrolases et les oxydases. Les oxydases (phenoloxidasés, peroxidasés), principalement libérées par les champignons, oxydent les composés phénoliques tels que la lignine en utilisant l'oxygène comme accepteur d'électron. Les hydrolases permettent l'hydrolyse des composés organiques et interviennent dans de très nombreuses réactions de dégradation de la MO (phosphatase, peptidase, glucosidasés, estérase). Par rapport aux hydrolases, les oxydases restent peu étudiées avec une estimation de seulement 150 articles publiés intégrant des mesures d'activités d'échantillons environnementaux (Sinsabaugh, 2010). Ce nombre peu important d'études est probablement lié aux difficultés méthodologiques qui caractérisent l'étude des oxydases (interactions avec les minéraux du sol). Une fois les macromolécules organiques décomposées, les composés libérés sont ensuite assimilés par les microorganismes du sol et minéralisés en CO₂ (en conditions aérobies) lors de la respiration. L'étape de dégradation des macromolécules organiques par les EE est considérée comme étant l'étape clé de la dynamique de la MOS, car limitant le processus de décomposition de la MOS (Allison, 2005b).

En permettant la minéralisation des composés organiques et en intervenant dans les cycles biogéochimiques de l'azote, du phosphore et du C, les enzymes extracellulaires du sol sont des composés clés du fonctionnement du sol en général, et de son service de régulation du climat en particulier.

Nutrient	Form	Compound	Enzyme	Examples
Carbon	Polysaccharide	Cellulose	Endo-cellulase	Deng and Tabatabai (1994)
			β -Glucosidase	Eivazi and Tabatabai (1988)
			β (1-3) glucanase	Lethbridge et al. (1978)
		Hemicellulose	Xylanase	Speir et al. (1984)
		Chitin	Endo-chitinase	Rodriguez-Kabana et al. (1983)
		Starch	N-acetylglucosaminidase Amylase	Parham and Deng (2000) Pancholy and Rice (1973)
	Aromatic	Lignin	Phenoloxidase Peroxidase Mn-peroxidase	Sinsabaugh et al. (1992) Sinsabaugh et al. (1992) Criquet et al. (2000)
Nitrogen	Aliphatic	Fatty acid esters	Lipase	Morgan and Cooper (1981)
	Peptide	Protein	Endo-protease	Ladd and Butler (1972), Garcia et al. (1994)
		Peptides	Aminopeptidase Carboxypeptidase	Saiya-Cork et al. (2002) Ladd and Butler (1972)
	Non-peptide	Primary amine	Amidase	Frankenberger and Tabatabai (1980), Dodor and Tabatabai (2003)
			Urease (Adenosine) deaminase (Aryl) deaminase	Sinsabaugh et al. (2000) Sato et al. (1986) Killham and Rashid (1986)
Phosphorus	Diester		Phosphodiesterase DNAase, RNAase	Sparling et al. (1986) Frankenberger et al. (1986)
	Monoester		Phosphomonoesterase	Eivazi and Tabatabai (1977), Sparling et al. (1986)
			Phytase	Svenson (1986)

Tableau 3. Principales enzymes extracellulaires intervenant dans la décomposition de la MO du sol (Caldwell, 2005).

3. Origines et localisations des EE dans le sol

La grande majorité des enzymes que l'on retrouve dans le sol provient de la sécrétion de celles-ci par les microorganismes. Cependant, des enzymes peuvent être libérées dans le sol suite à la destruction de cellules microbiennes ou par exsudation racinaire. Les enzymes intracellulaires libérées par la lyse des cellules bactériennes et fongiques sont souvent inaptes à catalyser une réaction (Burns et al., 2013). En effet, les conditions de pH, de concentration en sels, de teneur en eau ainsi que l'absence de cofacteur entravent leur capacité à catalyser une réaction. Cependant, les enzymes libérées par lyse cellulaire peuvent se fixer à des ligands (argiles, tannins, etc.) du sol et ainsi acquérir des propriétés nouvelles et significatives dans le fonctionnement des sols (Gobat et al., 2010). De plus, les enzymes accolées à la

membrane des cellules vivantes permettent des réactions extracellulaires et ainsi la décomposition de macromolécules organiques par les microorganismes du sol. Cependant, celles-ci sont moins efficaces (conformation de la protéine) et plus dépendantes des conditions du milieu comparées aux EE. Les méthodes utilisées aujourd'hui dans la détermination des activités des EE ne permettent pas de distinguer la contribution intracellulaire de celles dites extracellulaires (Nannipieri et al., 2003). Les EE secrétées par les microorganismes se retrouvent associées à différents éléments constitutifs du sol (Fig.31, Burns et al., 2013). Ainsi, les enzymes peuvent former un complexe avec la MOS, être adsorbées à l'extérieur ou à l'intérieur des feuillets d'argiles, associées à leur substrat ou encore liées à des tannins condensés (Burns et al., 2013). La localisation des EE dans le sol modifiera leur conformation et ainsi leur capacité à catalyser une réaction. De plus, leur stabilité dans le sol est fortement liée à leur localisation. Les enzymes intimement liées au compartiment minéral comme les argiles seront beaucoup plus stables et présenteront une activité dans les environnements instables (changement de pH, changement de la teneur en eau et de la température du sol) (Nannipieri et al., 2003,). Ainsi, suite à une perturbation environnementale, les enzymes du sol peuvent résister alors même que les communautés microbiennes seront très affectées. Kemmitt et al. (2008), montre ainsi une activité de décomposition significative même après suppression volontaire des communautés microbiennes du sol. L'interaction des enzymes avec les composés du sol complique la compréhension des effets engendrés par les changements environnementaux sur la dynamique microbienne du sol. Les méthodes actuelles ne permettent pas de différencier les enzymes extracellulaires libres dans le milieu à celles stabilisées par l'interaction avec le compartiment minéral. Au final, la localisation des enzymes du sol définit leur résistance aux perturbations, leur stabilité ainsi que leur activité (Fig.31).

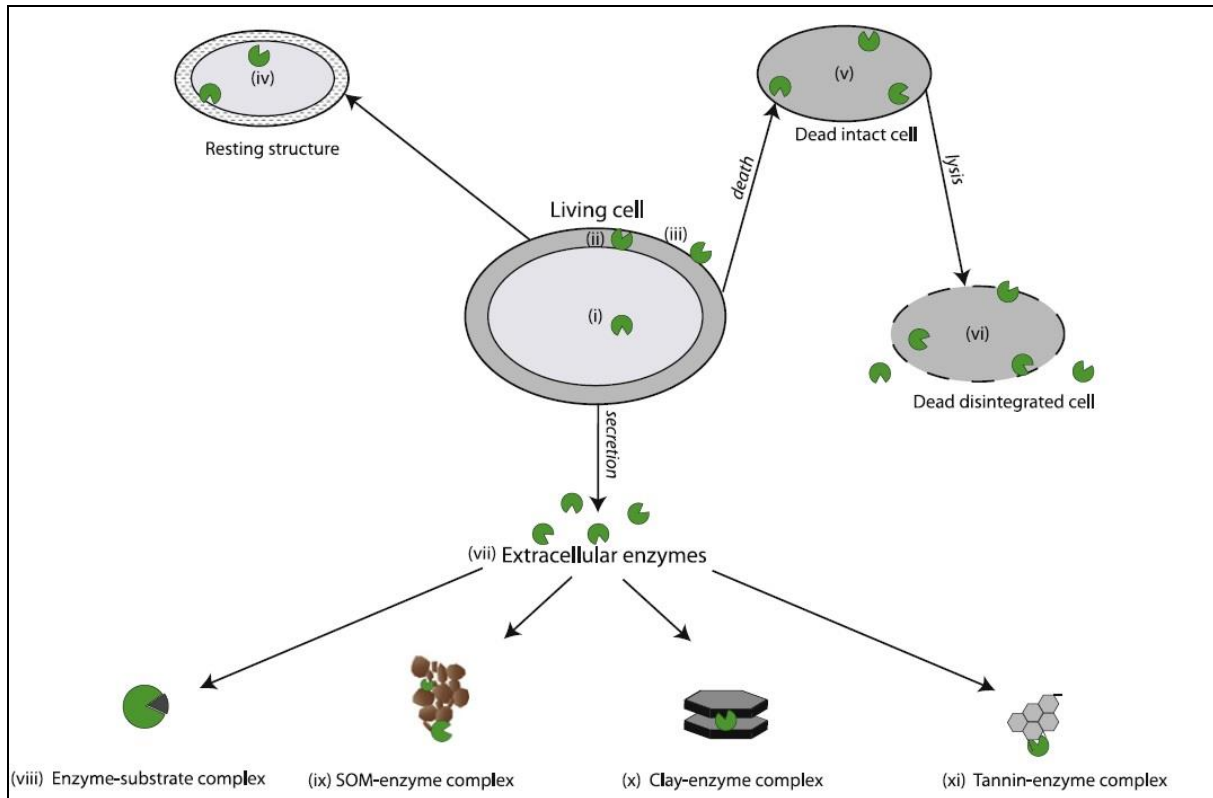


Figure.31 : Localisation des enzymes du sol (Burns et al., 2013), (i) à l'intérieur du cytoplasme des cellules ; (2) espace périplasmique ; (3) accolées à la membrane cellulaire (biofilms), enzymes actives dirigées vers le milieu environnant ; (iv) contenues dans les cellules dormantes des μ organismes, (v) attachées à des cellules mortes ou à des débris cellulaires, (vi) libérées suite à la lyse des cellules microbiennes, (vii) libres dans la solution de sol, (viii) complexe enzyme-substrat, (ix) liées à la MO du sol par encapsulation, absorption ou copolymérisation , (x) adsorbées aux surfaces internes ou externes des argiles, (xi) liées aux tanins condensés.

4. Principe des méthodes de détermination des activités enzymatiques du sol

Le principe de ces méthodes est relativement simple. Il consiste à utiliser un substrat lié à une molécule douée de propriétés colorimétriques ou fluorimétriques (Fig.33). Lors de la dégradation du substrat par l'enzyme spécifique de ce substrat, l'indicateur colorimétrique ou fluorimétrique est libéré dans le milieu. Le suivi de la réaction est réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre permettant de doser la quantité de molécules marqueurs présentes dans le milieu réactionnel. Aujourd'hui, les méthodes colorimétriques sont de moins en moins utilisées au profit de méthodes par dosage de la fluorescence. Les méthodes utilisant des

fluorochromes sont en effet plus sensibles et permettent de traiter un grand nombre d'échantillons en travaillant sur microplaques (96 puits ; Saiya-Cork et al., 2002 ; Marx et al., 2001). Généralement, le substrat est ajouté au dernier moment à une solution de sol préparée préalablement et le suivi de la réaction s'effectue sur plusieurs heures. Les fluorochromes communément utilisés sont le 4-methylumbelliferyl (MUB), le 4-amidomethylcoumaryl (AMC) et la Fluorescein Diacetate (FDA). Les méthodes fluorométriques sont très largement répandues dans l'étude des hydrolases. Concernant l'étude des oxydases, la plupart des méthodes utilisés sont colorimétriques (Sinsabaugh, 2010). De plus, la majorité des études s'appuie sur des méthodes mesurant l'activité directement à partir de la solution de sol non purifiée. D'autres méthodes consistent à réaliser une extraction des matières organique dissoutes pour réaliser la réaction enzymatique. Ces méthodes ont pour but de s'affranchir des interactions entre la MOS, les minéraux et le substrat pouvant altérer la réaction enzymatique. Cependant, le processus de filtration est critiqué car il pourrait sélectionner certaines enzymes préférentiellement.

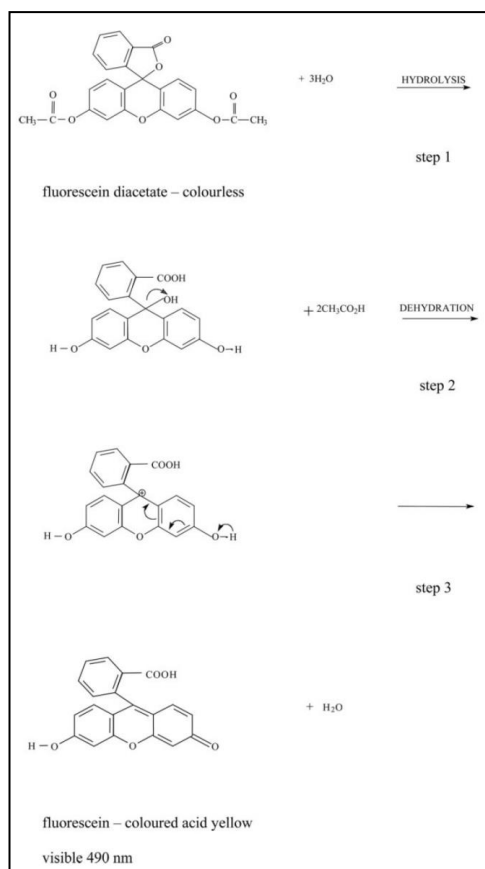


Figure.32 : Réaction enzymatique de dégradation du substrat (fluorescéine diacetate). Le produit de la réaction est la fluorescéine visible à 490 nm.

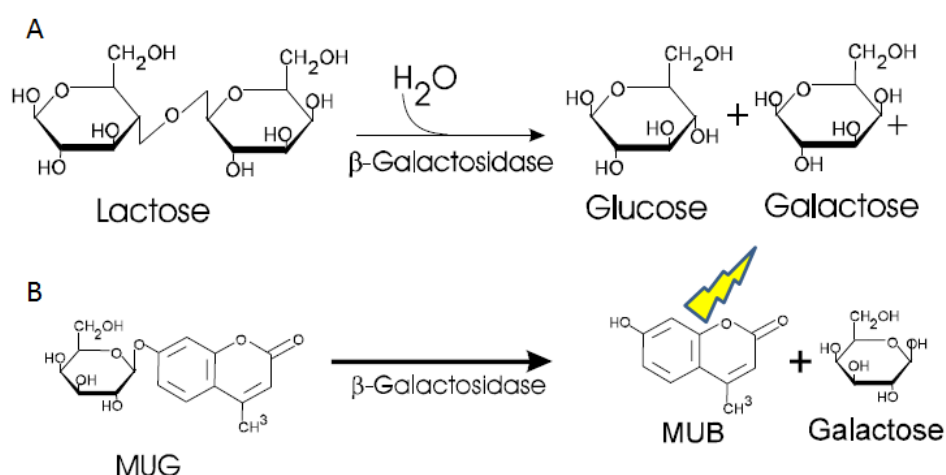


Figure.33: Méthodes utilisant la fluorescence pour mesurer l'activité de la β-galactosidase. A) Hydrolyse enzymatique du lactose (β-galactosides) en glucose et galactose. B) Imitation de la réaction précédente, le Methylumbellifère b-D-galacto-pyranoside est hydrolysé par la β-galactosidase ; les produits de la réaction sont le galactose et le MUB (4-méthylumbelliferyl) qui est fluorescent (excitation: 372nm, émission pic: 445 nm).

5. Conditions nécessaires à des mesures fiables des activités enzymatiques du sol

La mesure du suivi cinétique de la réaction enzymatique s'effectue au laboratoire sous des conditions contrôlées au maximum pour maximiser les comparaisons de résultats entre études. German et al. (2011), spécifie les conditions dans lesquelles une mesure d'activité enzymatique doit être réalisée. Cet article insiste notamment sur le fait de réaliser la réaction dans un milieu à pH stable régulé par un tampon qui se situe de préférence proche du pH du sol étudié. De plus, il est important de stabiliser la température de réaction, en prenant soin d'incuber le milieu réactionnel dans le noir car les fluorochromes utilisés peuvent être sensibles à la lumière (Bell et al., 2013). La concentration en substrat, est aussi une variable importante due à son effet sur la cinétique de la réaction. Il faut travailler à une concentration en substrat qui est en excès. Pour ce faire, il faut avoir au préalable testé la cinétique de la réaction pour le type de sol étudié en faisant varier la concentration en substrat. Il est préférable également de suivre la réaction pendant plusieurs heures afin de s'assurer de la linéarité de la vitesse de réaction enzymatique (German et al, 2011).

6. Les mesures des activités enzymatiques en laboratoire : des activités potentielles

Quelle que soit la méthode utilisée, les méthodes actuelles correspondent à une mesure d'activité enzymatique potentielle réalisée en conditions optimales et non à une « mesure réelle » qui correspond à l'activité enzymatique *in situ* (Burns, 1978 ; Tabatabai et Dick, 2002 ; Wallenstein et Weintraub, 2008). En effet, la structure du sol est complètement détruite et le milieu de réaction homogénéise les conditions abiotiques. Le pH, la température et la structure du sol régulent l'activité et la diffusion des enzymes du sol. Les méthodes de mesures des activités enzymatiques modifient ces trois facteurs. Par conséquent les mesures d'activités enzymatiques réalisées en laboratoire sont toujours des mesures d'activités potentielles. De plus, la détermination de l'activité enzymatique se fait généralement une température optimale pour la cinétique des réactions. En se plaçant dans les conditions optimales et identiques quels que soient les sols, les résultats obtenus permettent d'estimer une activité enzymatique potentielle ce qui équivaut à estimer la quantité d'enzymes mesurées présentes dans le sol (pool d'enzymes du sol). Ainsi, on peut aisément déduire l'abondance d'enzymes extracellulaires dans le sol mais cette information pourrait ne pas refléter leurs activités *in situ*. Il est important de prendre en compte ces limites des mesures d'activité enzymatiques en laboratoire pour ne pas surinterpréter ou mal interpréter les résultats.

Pour conclure, de nombreuses méthodes sont aujourd'hui utilisées pour mesurer l'activité de différentes enzymes. Il n'y a aujourd'hui aucune méthode uniformisée et chaque laboratoire utilise des protocoles légèrement adaptés pour des raisons logistiques et de transmission du savoir. Cependant de petites modifications de protocole peuvent entraîner de grosses différences dans les mesures d'activités enzymatiques. Il est donc nécessaire aujourd'hui d'uniformiser les mesures d'activités enzymatiques des sols (Bell et al, 2013).

III. Contribution scientifique

Article publié dans le journal Soil Biology and Biochemisrty

Title: « Seasonal influence of climate manipulation on microbial community structure and function in mountain soils ». January 2015, volume 80, Pages 296-305

Jérémy Puissant^{a,b}, Lauric Cécillon^{a,b}, Robert T.E. Mills^{c,d}, Bjorn J.M. Robroek^{c,d,e},
Konstantin Gavazov^{c,d}, Sébastien De Danieli^{a,b}, Thomas Spiegelberger^{a,b}, Alexandre
Buttler^{c,d,f}, Jean-Jacques Brun^{a,b}

Seasonal influence of climate manipulation on microbial community structure and function in mountain soils

Jérémy Puissant^{a,b}, Lauric Cécillon^{a,b}, Robert T.E. Mills^{c,d}, Bjorn J.M. Robroek^{c,d,e}, Konstantin Gavazov^{c,d}, Sébastien De Danieli^{a,b}, Thomas Spiegelberger^{a,b}, Alexandre Buttler^{c,d,f}, Jean-Jacques Brun^{a,b}

Abstract

Microbial communities drive soil organic matter (SOM) decomposition through the production of a variety of extracellular enzymes. Climate change impact on soil microbial communities and soil enzymatic activities can therefore strongly affect SOM turnover, and thereby determine the fate of ecosystems and their role as carbon sinks or sources.

To simulate projected impacts of climate change on Swiss Jura subalpine grassland soils, an altitudinal soil transplantation experiment was set up in October 2009. On the fourth year of this experiment, we measured microbial biomass (MB), microbial community structure (MCS), and soil extracellular enzymatic activities (EEA) of nine hydrolytic and oxidative extracellular enzymes in the transplanted soils on a seasonal basis.

We found a strong sampling date effect and a smaller but significant effect of the climate manipulation (soil transplantation) on EEA. Overall EEA was higher in winter and spring but enzymes linked to N and P cycles showed higher potential activities in autumn, suggesting that other factors than soil microclimate controlled their pool size, such as substrate availability. The climate warming manipulation decreased EEA in most cases, with oxidative enzymes more concerned than hydrolytic enzymes. In contrast to EEA, soil MB was more affected by the climate manipulation than by the seasons. Transplanting soils to lower altitudes caused a significant decrease in soil MB, but did not affect soil MCS. Conversely, a clear shift in soil MCS was observed between winter and summer. Mass-specific soil EEA (EEA normalized by MB) showed a systematic seasonal trend, with a higher ratio in winter

than in summer, suggesting that the seasonal shift in MCS is accompanied by a change in their activities. Surprisingly, we observed a significant decrease in soil organic carbon (SOC) concentration after four years of soil transplantation, as compared to the control site, which could not be linked to any microbial data.

We conclude that medium term (four years) warming and decreased precipitation strongly affected MB and EEA but not MCS in subalpine grassland soils, and that those shifts cannot be readily linked to the dynamics of soil carbon concentration under climate change.

Keywords: Climate change; PLFA; soil enzymes; soil organic carbon; mountain grasslands; soil transplantation experiment

1. Introduction

The persistence of the large amount of organic carbon stored in mountain grassland soils strongly depends on the expected modification of the rate of microbial decomposition of soil organic matter (SOM) under a changing climate (Saenger et al., 2013; Sjögersten et al., 2011). Climate control on the rate of SOM decomposition can be evaluated by considering soils as a “black box”, and monitoring soil C outputs such as soil respiration under various climatic conditions (Bahn et al., 2008; Bond-Lamberty and Thomson, 2010). However, the emergence of a new generation of models of soil organic C (SOC) dynamics, integrating some principles of microbial ecology (biomass, community structure and metabolic activities of microorganisms), aims for a better understanding of the climate dependency of microbial mechanisms involved in SOM decomposition (Allison et al., 2010; Lawrence et al., 2009; McGuire and Treseder, 2010; Wang et al., 2013).

Soil microbial communities affect SOM decomposition by a variety of extracellular enzymes (EEs), exudated to the soil matrix; each EE being specific to a certain chemical bond. Soil EEs depolymerize SOM through several types of chemical reactions, such as hydrolysis (hydrolytic EEs) or oxidation (oxidative EEs), the latter having received relatively little attention in soil research (Sinsabaugh, 2010). Even though the regulation of SOM turnover by soil microorganisms has recently been questioned (Bradford, 2013; Kemmitt et al., 2008), SOM enzymatic depolymerisation has been hypothesised to be the rate-limiting step in SOM decomposition (Bengtson and Bengtsson, 2007; Conant et al., 2011). This key soil process is tightly linked to soil microclimate (temperature and moisture), and also to EE pool size, which is mediated by the complex strategies of soil microbial communities (Allison and Treseder, 2008; Burns et al., 2013; Steinweg et al., 2013).

Only few studies have assessed the effect of *in situ* climate change (using *e.g.* overhead infrared heaters, open top chambers, soil altitudinal transplantation) on potential soil extracellular enzyme activities (EEA), and most of them focused on the growing season only (Burns et al., 2013). Climate change could lead to contradictory effects on microbial decomposition with decreased enzyme production (synthesis and secretion), increased enzyme-catalysed reactions, and modified enzyme stability in soils (Burns et al., 2013). Altered precipitation generally has a greater impact on soil EEA than temperature change, which is often not significant (Henry, 2013). Seasonal climate effects are generally known to

be stronger on soil EEA than experimental climate manipulations (see Weedon et al., 2011 for a review), suggesting other drivers like plant nutrient demand and/or substrate quality and availability for soil EEA (German et al., 2011). On the other hand, climate warming affects also seasonal development, typically in mountain regions with a shortening of the snow period, which affects soil processes (Robroek et al., 2012). However, seasonal changes in soil EEA are not unidirectional, and depend on the studied enzyme and ecosystem type (Baldrian et al., 2013; Löffler et al., 2008; Steinweg et al., 2013). As such, it appears difficult to predict modifications in the rate of SOM enzymatic depolymerisation under projected climate change (Burns et al., 2013; Davidson and Janssens, 2006). Moreover, there is a lack of knowledge on the effect of climate change on the relationships between soil microbial biomass (MB), microbial community structure (MCS) and EEA, which impedes building a predictive framework (Sinsabaugh, 2010). Apart from generally observed seasonal shift in MCS and MB (Bardgett et al., 1999; Lipson and Schmidt, 2004; Pascault et al., 2010; Waldrop and Firestone, 2006), climate manipulations (mostly long term warming, i.e. >10 years) also impact on MCS (Budge et al., 2011; Rinnan et al., 2007). The link between MB and soil EEA is not clear, with a majority of studies showing no correlation as evidenced by climate induced modifications of mass-specific EEA (i.e. EEA per mg MB C; Schindlbacher et al., 2011; Steinweg et al., 2013; Waldrop and Firestone, 2006), while some enzyme-based models explicitly hypothesize that EEA is tightly linked to MB (e.g. Wang et al., 2013).

In this study, we used an altitudinal transplantation experiment of grassland turfs in mesocosm boxes to investigate the climate impact (both the seasonal influence and the climate-manipulation effect on the fourth year of experimentation) on microbial decomposition in subalpine grasslands of the Swiss Jura. The transplantation experiment simulated two realistic climate change scenarios, with increased air temperatures ranging between 2 °C and 4 °C and decreased precipitation ranging between 20% and 40%. These changes reflect current predictions of climate change for the 21st century in temperate mountain regions (Frei et al., 2006; Meehl et al., 2007; C2SM, 2011). Previous results from the same experimental plots have already shown (i) a significant decrease in soil respiration (Gavazov, 2013; Mills et al., 2014), and (ii) a significant increase in soil dissolved organic carbon (DOC) concentration in soil solution collected by zero tension lysimeters (Gavazov, 2013) under both climate change scenarios, and (iii) a significant decrease in aboveground biomass production under the most intensive climate change scenario (+4 °C and 40% decrease in precipitation; Gavazov et al., 2014).

Here, we investigated three key elements related to microbial decomposition: soil microbial abundance/biomass, soil microbial C, N and P enzymatic activities and soil microbial community structure across seasons. Our main objectives were to assess (i) the seasonal dynamics of various enzyme pool sizes in mountain grassland soils, and their relationships with microbial abundance and community structure; (ii) the medium term (four years) impact of two climate change scenarios on soil microbial abundance, community structure and activities across seasons, and their links with SOC concentration in mountain grassland soils.

2. Materials and methods

2.1. Design of the altitudinal soil transplantation experiment

The experimental design of this study was based on a mesocosm turf transplantation carried out in 2009 (Gavazov et al., 2013, 2014), and focused on the response of subalpine grasslands in the Swiss Jura mountains to two intensities of climate change. This manipulation successfully simulated year-round moderate and intensive climate change scenarios expected regionally in the 21st century (A1B and A2 scenarios, respectively; Frei et al., 2006; Meehl et al., 2007). Briefly, 15 mesocosms, made of rectangular PVC boxes (60 x 80 and 35 cm in height), containing monoliths of undisturbed soil (30 cm depth), and their intact herbaceous vegetation typical of open grasslands (consisting mainly of graminoids with few forbs; Gavazov et al., 2014) were taken from a subalpine pasture located at 1350 m a.s.l. (Combe des Amburnex, N46°54', E6°23'). The soil type is Cambisol (IUSS Working Group WRB, 2007), and the parent material is Jurassic limestone. The 15 mesocosms were then transplanted (5 per site) in common gardens at the site of origin (control: 1350 m a.s.l.) and two lower-altitudinal sites: 1010 m a.s.l. (Saint-George, N46°52', E6°26') and 570 m a.s.l. (Arboretum d'Aubonne, N46°51', E6°37'). Climate conditions in the Swiss Jura are typical for an oceanic mountain climate, with significant amount of precipitation and large annual temperature variation. At the highest site (control; 1350m a.s.l), the mean annual temperature is +4.5 °C and the mean annual rainfall is 1750 mm, including over 450 mm of snow. The soil transplantation simulates a climate warming with an average 2 °C and 4 °C temperature increase and 20% and 40% decrease in precipitation at the intermediate site and the lowest site, respectively (see Gavazov et al. 2013 for a more detailed description of climate data).

2.2. Soil microclimate monitoring

Soil temperature and volumetric water content of topsoil horizon were recorded every minute in each mesocosm, using Em50 data-loggers (Decagon Devices, Inc., USA) and ECH2O EC-TM probes inserted at 3 cm depth. Soil temperature and moisture data used here (Nov. 2012 – Oct. 2013) are daily averages.

2.3. Seasonal soil sampling

Four sampling campaigns (corresponding to each season) were performed over the fourth year of the soil transplantation experiment. Sampling dates were chosen according to the main climatic drivers at the control site (1350 m a.s.l.): just before snow cover (autumn, November 23rd 2012), at maximum snow cover (winter, February 20th 2013), just after snow-melt (spring, May 27th 2013) and at the end of summer (September 2nd 2013). For MB, EEA and basic soil characteristics, five intact soil cores (5 cm diameter \times 10 cm length) per site (one core per mesocosm) were taken at each sampling date, immediately placed in a cool box and transported to the lab where the cores were stored at field moisture content and 4 °C before analysis. Samples were analysed within one week after sampling for EEA and MB (see below). For PLFA analysis, 20 g of soil from 0 to 10 cm were sampled at two sampling dates (winter and summer) in each mesocosm, only at the highest and lowest altitudes. These soil samples were sieved to 2 mm directly in the field and stored immediately at -79 °C into carbon ice before analysis.

2.4. Basic soil characteristics

Basic soil properties of the intact soil cores (0-10 cm depth) were analysed using standardized methods. The gravimetric soil water content was measured by drying soil at 105 °C for 48 h according to norm NF ISO 16586 (2003). For all chemical soil analyses, samples were dried at 40 °C as indicated in norm NF ISO 11464 (2006). Soil pH was measured in H₂O (1:5 vol:vol) according to the norm NF ISO 10390 (2005). Calcareous content was determined following the norm NF ISO 10693 (1995). Organic carbon and total nitrogen concentrations were measured by the Dumas dry combustion after decarbonation (NF ISO 10694, 1995;

13878, 1995, respectively). Decarbonation was achieved by successive additions of a diluted HCl (10%) solution to soil samples.

2.5. Soil microbial biomass (MB)

Soil MB was assessed as microbial C, using the chloroform fumigation extraction method (Brookes et al., 1985; Vance et al., 1987) on subsamples of 10 g of sieved (2 mm) soils incubated in the dark, overnight. An extraction coefficient of 0.45 was used for calculating microbial C. Soil MB measurements are available only for the winter, spring and summer sampling times.

2.6. Soil microbial community structure (MCS)

Soil MCS was assessed by analysing the microbial phospholipid fatty acid (PLFA) composition. PLFAs were extracted according to Bligh and Dyer (1959), and modified by Börjesson et al. (1998). Total lipids were extracted overnight from 4 g freeze-dried soil in a solvent phase of 3.0 ml 50mM phosphate buffer (pH = 7.0), 3.8 ml chloroform (CHCl_3), 7.6 ml methanol (MeOH), and 4 ml Bligh and Dyer (1959) reagent (CHCl_3 : MeOH: P-buffer; 1: 2: 0.8 (v/v/v)). Total lipids were separated into neutral lipids, glycolipids, and phospholipids by dissolving the total lipid fraction using chloroform, acetone and methanol solutions, which were respectively added over Discovery[®] DSC-Si SPE Tubes (Sigma-Aldrich). PLFA 19:0 (Larodan Malmö, Sweden) was added as internal standard to the phospholipid fraction. PLFAs were trans-esterified to fatty acid methyl esters (FAMES) using 1 ml 0.2 M methanolic-KOH (Chowdhury and Dick, 2012; Sundh et al., 1997). PLFAs were analysed on a gas chromatograph according to Steger et al. (2003).

The ratio of fungal to bacterial biomass (F/B) in soil was calculated from PLFA data, following the method used and described by Bardgett et al, (1999).

2.7. Soil extracellular enzymes activity (EEA) assays

The potential activity of eight individual extracellular enzymes (see Table 1 for a presentation of all enzymes and their abbreviations) was used to represent the degradation of the main soil biochemical compounds. Seven hydrolytic EEA were measured by fluorogenic methods using 4-MUB (4-methylumbelliferone) and 7-AMC (7-amino-4-methyl coumarin). Enzyme assays were processed in acetate buffer solution (pH = 5) which was chosen to be close to soil field pH, and for stabilizing the fluorescence intensity which is dependent on pH fluctuation (German et al., 2011). Enzyme assays were performed according to Marx et al. (2001) with small modifications. Briefly, 2.5 g of moist soil sieved at 2 mm was mixed with 40 ml of acetate buffer in 50ml sterile tubes. These tubes were placed for twenty minutes into a shaker at 250 rpm to obtain a homogenous soil solution. Then, 30 μ l of soil solution was added to a 96-well microplate with 30 μ l of fluorometric substrate (300 mM, saturated concentration) and completed to 250 μ l with acetate buffer solution. Enzymatic reactions were incubated in the dark for 5 hours at 28 °C, with one fluorometric measure per hour. For each sample, three methodological replicates (sample + buffer + substrate) and a quenched standard (sample + buffer + 4-MUB or 7-AMC) were used. For each substrate, a control including the 4-MUB- or 7-AMC-linked substrate and the buffer solution alone were used to check the evolution of fluorescence without enzyme degradation over the duration of assay. The fluorescence intensity was measured using a Varioskan flash spectrophotometer set to 330 and 342 nm for excitation and 450 and 440 nm for emission for the 4-MUB and the 7-AMC substrate, respectively.

The potential activity of phenol oxidase (POX), an oxidative EE, was measured by absorbance. The protocol described by (Floch et al., 2007) was used with small modifications. Oxidation of ABTS (2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) was determined by using the same soil solution prepared for fluorogenic enzyme assays. POX reactions were processed for 10 minutes at 37 °C in 2 ml centrifuge tubes containing 0.4 ml of soil solution, 1 ml of acetate buffer (pH = 5) and 0.1 ml of ABTS (50 mM). Blanks were measured with 0.4 ml of soil solution and 1.1 ml of acetate buffer. Additionally, a control of substrate absorbance was performed with 0.1 ml of ABTS (50 mM) and 1.4 ml of acetate buffer. Absorbance was measured at 420 nm and the extinction value was $\epsilon_{420} = 36\,000\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Ullrich and Nüske, 2004).

Finally, hydrolysis of fluorescein diacetate (FDA) was measured to estimate the overall microbial activity in soil (Green et al., 2006). FDA was assayed with the same protocol as described above for hydrolytic EEA, with little adaptations. For FDA, the reaction was processed in sodium phosphate buffer (pH = 7.6) as recommended by Green et al. (2006), and the fluorescence intensity was measured at 490 nm for excitation and 523 nm for emission.

Abbreviation	EC number	Enzyme	Substrate	Function
PHO	3.1.3.1	alkaline phosphatase	4-MUB-phosphate	Phosphorus mineralization
BG	3.2.1.21	β -glucosidases	4-MUB- β -D-glucopyranoside	Releases glucose from cellulose
CB	3.2.1.91	Cellobiohydrolase	4-MUB- β -D-cellobioside	Releases disaccharides from cellulose
NAG	3.2.1.30	N-acetyl-glucosaminidase	4-MUB-N-acetyl- β -D-glucosaminide	Degrades chitin
BX	3.2.1.37	Xylosidase	4-MUB- β -D-xylopyranoside	Degrades hemicellulose
LIP	3.1.1.3	Lipase	4-MUB-heptanoate	Degrades lipids
FDA	3.1.1	fluorescein diacetate hydrolysis	Fluorescein diacetate	Overall microbial activity potential
POX	1.10.3.2	phenol oxidase	ABTS	Oxidation of aromatic compound (lignin)
LAP	3.4.11.1	leucine-amino-peptidase	L-Leucine-7-AMC	Degrades protein into amino acids

Table 1: Soil extracellular enzymes assayed for potential activity with abbreviation and enzyme commission classification (EC), substrate and enzymes functions. 7-AMC = 7-amido-4-methylcoumarin hydrochloride, 4-MUB: 4-methylumbelliferyl. ABTS = 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt.

All enzymes activities were calculated in nanokatal (nmol of product per second) and normalized by (i) g of dry soil (EEA on a dry soil mass basis), (ii) mg of microbial biomass (mass-specific EEA, reflecting microbial strategy of enzymes production).

2.8. Statistical analyses

The effect of climate manipulation (altitudinal effect) on MB, F/B, EEA and basic soil characteristics was assessed at each sampling date using a one-way ANOVA followed by Tukey's HSD post hoc tests. Assumptions of normality and homoscedasticity of the residuals were verified visually using diagnostic plots and a Shapiro-Wilk test. Log or square root transformations were used when necessary to respect these assumptions.

The effects of sampling date and climate manipulation (altitudinal effect) and their interactions on MB, F/B, EEA and basic soil characteristics were assessed by repeated measures ANOVA. Fixed factors were sampling date and site, while mesocosm was added as a random factor. It is important to note that in this study the seasonal dynamics is evaluated with one sampling date per season, with spatial replicates instead of temporal replicates.

To identify MCS pattern, a principal component analysis (PCA) based on Hellinger-transformed PLFA data was performed (Legendre and Gallagher, 2001). We used a permutational multivariate ANOVA (ADONIS) based on Euclidean distance to test the effect of sampling date and altitude on MCS pattern. For each sample, PLFA data were normalized by total PLFA abundance to obtain relative abundances. Sums of squares and resulting F-tests from permutations of the raw data were calculated to test for the significance of the transplantation site and the sampling date on PLFAs data. Two indices PC 1 and PC 2 corresponding to axis 1 and 2 of the PCA were extracted so as to summarize MCS data in subsequent statistical analyses. Finally, the effects of the soil microbial compartment (MB and MCS, summarized as PC 1 and PC 2 indices) and substrate availability (SOC content and C/N) on EEA (dry soil mass basis) were tested using redundancy analysis (RDA). RDA analysis was applied to the C (=BG + BX + CB), N (=NAG +NAP), P, LIP, POX enzyme pool size, using microbial parameters (MB and MCS), and soil substrate characteristics (SOC content and C/N) as explanatory variables. RDA was based on data collected in winter and

summer at the control site (1350 m a.s.l.) and the lowest experimental site (570 m. a.s.l.; the most intensive climate change scenario). The significance of explanatory variables was tested by a permutation test (9999 permutations).

All statistical analyses were performed in R 2.14.0 (R Development Core Team 2011), using the R packages *vegan* (Oksanen et al., 2013), *ade4* (Dray and Dufour, 2007) and *NLME* (Pinheiro et al., 2014).

3. Results

3.1. Soil microclimate

Soil temperatures during the period of investigation (Fig. 1) showed a long stable soil temperature period at 0°C in winter under snow cover and a daily maximum temperature of ca. 20 °C in summer at the control site (1350 m a.s.l.). The transplantation sites at lower elevation, in contrast, exhibited longer and warmer plant growing seasons. At the lowest experimental site (570 m a.s.l.), the snow cover melted completely several times during the winter, resulting in strong mid-winter soil temperature fluctuations. For each experimental site, soil moisture (volumetric water content) at 3 cm depth remained rather constant across the year except in summer when soil moisture decreased strongly (Fig. 1).

The effect of soil transplantation (climate manipulation) on soil microclimate was more proportional to altitude for soil temperature than for soil moisture (Fig. 1). From November 2012 to October 2013, averaged annual soil temperature and moisture at 3 cm depth were respectively 6.6°C and 53% at the control site (1350 m a.s.l.), 9.2°C and 56% at the intermediate experimental site (1010 m a.s.l.), and 11.2°C and 36% at the lowest experimental site (570 m a.s.l.). These values were consistent with microclimate data measured from the start of the experiment (Gavazov, 2013). The three experimental sites thus showed a clear gradient of soil temperature, with decreasing temperature related to the elevation of the experimental site. Soil moisture slightly decreased with altitude except at the intermediate site (1010 m a.s.l) where soil moisture was either similar to the highest site or to the lowest site, depending on the measured soil depth (0-3 cm or 0-10 cm, Table 2). Globally,

on the four sampling dates, the soil microclimate was consistent with soil temperature and moisture patterns recorded during the four corresponding seasons (Fig. 1).

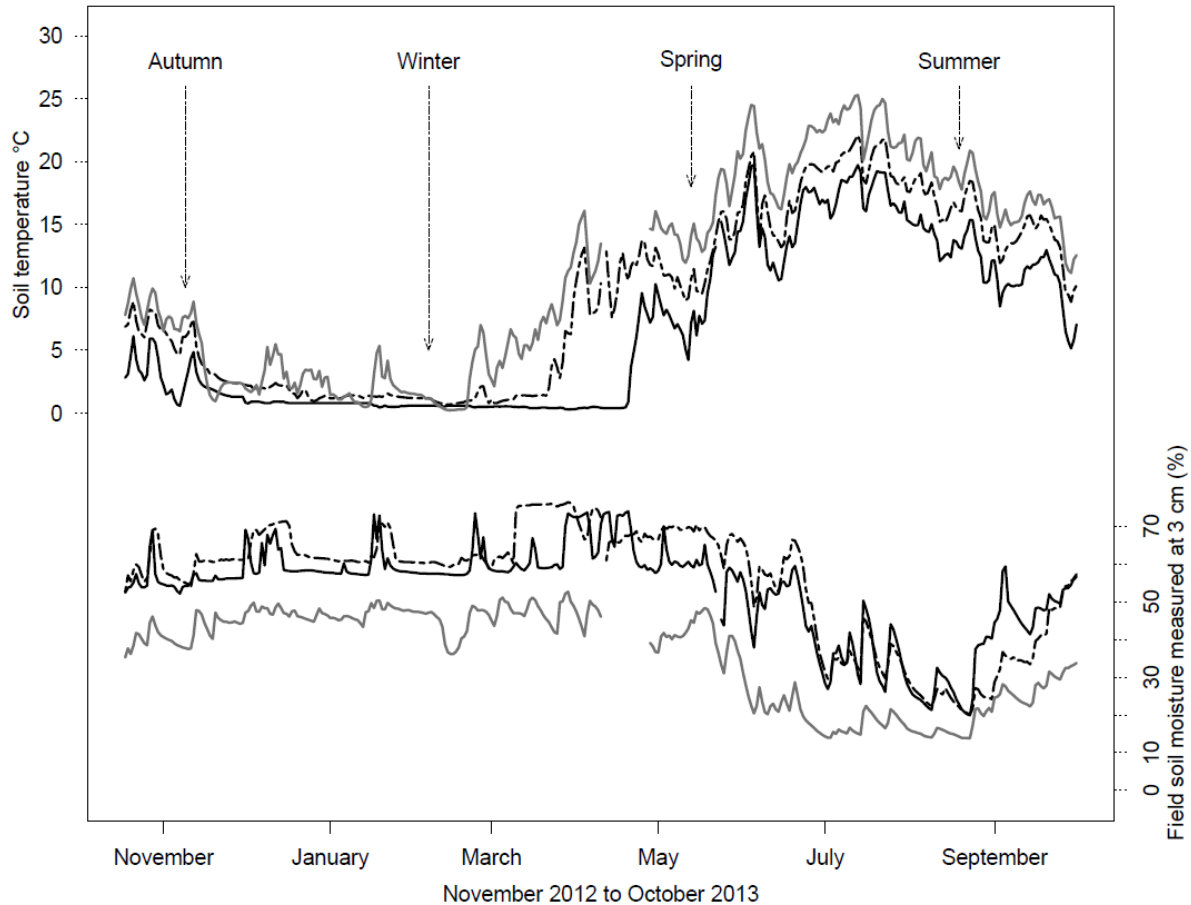


Fig.1. Daily mean soil temperature and moisture of soil mesocosms at each site throughout the year 2012-2013. Control site (1350 m a.s.l.) in black line; intermediate site (1010 m a.s.l.) in dashed line; lowest site (570 m a.s.l.) in grey line. The arrows indicate the four dates of soil sampling.

3.2. Basic soil characteristics

Soil pH neither differed among sampling dates, nor among experimental sites (mean pH = 5.5), but in autumn when soil pH was higher at the control (1350 m a.s.l.) site (Table 2). Calcareous content was about 2 g kg^{-1} and did not differ among experimental sites or among sampling dates (Table 2). Soil organic C concentration did not change along the year. In contrast, SOC concentration was affected by the soil transplantation. SOC concentration was

decreased significantly at the intermediate experimental site (in winter, spring and summer) and at the lowest site (summer) compared to the control site after four years of soil transplantation (Table 2). Soil total N concentration showed a similar pattern (Table 2), except in autumn, where total N concentration was lower at the control and intermediate sites as compared to the lowest experimental site.

3.3. Soil microbial biomass (MB)

We observed significant temporal variation in soil MB, with a higher abundance of soil microorganisms in winter and spring than in summer (Table 2). Interestingly, we also observed a significant transplantation effect on MB, which was stronger than the sampling date effect (Table 3). Soil MB decreased at the two lower experimental sites (570 and 1010 m a.s.l.) compared to the control site (1350 m a.s.l.). These differences in soil MB due to climate manipulation were significant in spring and summer but not in winter even though the trend was similar (Tables 2 and 3).

	Sampling dates	autumn			winter			spring			summer			
		(November 23 rd 2012)			(February 20 th 2013)			(May 27 th 2013)			(September 2 nd 2013)			
		Altitude	m a.s.l.	570	1010	1350	570	1010	1350	570	1010	1350	570	1010
Soil moisture (0-10 cm; laboratory measurements)	%		42 ± 2	43 ± 2	48 ± 1	43 ± 2	44 ± 2	50 ± 2	44 ± 1 ^a	45 ± 2 ^{ab}	51 ± 2 ^b	21 ± 1 ^a	26 ± 2 ^a	33 ± 1 ^b
Soil moisture (field measurements at 3	%		38 ± 2	55 ± 4	54 ± 11	47 ± 8	60 ± 4	57 ± 9	45 ± 5 ^a	70 ± 1 ^b	60 ± 8 ^{ab}	14 ± 2 ^a	22 ± 1 ^b	23 ± 1 ^b
Soil temperature (field measurements at 3 cm)	°C		7.7 ± 0.3 ^a	6.1 ± 0.1 ^b	2.4 ± 0.2 ^c	1.2 ± 0.4	1.2 ± 0.2	0.6 ± 0.2	14.1 ± 0.4 ^a	10.7 ± 0.2 ^b	7.2 ± 0.4 ^c	18.4 ± 0.4 ^a	16.1 ± 0.1 ^b	13.2 ± 0.2 ^c
pH [in H ₂ O]	-		5.2 ± 0.1 ^a	5.3 ± 0.3 ^a	6.5 ± 0.3 ^b	5.7 ± 0.2	5.9 ± 0.2	5.7 ± 0	5.3 ± 0.1	5.6 ± 0.2	5.5 ± 0.1	5.4 ± 0.2	5.7 ± 0.2	5.6 ± 0.1
Calcareous content	g.kg ⁻¹		2.6 ± 0.2	2.4 ± 0.2	7.8 ± 4.1	2.6 ± 0.2	2.2 ± 0.2	2 ± 0.5	2.2 ± 0.6	1.4 ± 0.6	1.2 ± 0.5	3.6 ± 1.1	2.4 ± 0.2	1.6 ± 0.4
Organic carbon	g.kg ⁻¹		71.1 ± 5.2	61 ± 6.9	74.6 ± 6	66.5 ± 4.3 ^{ab}	60.7 ± 4.6 ^b	77.5 ± 2.1 ^a	68.7 ± 2.9 ^{ab}	56.5 ± 6.9 ^b	82.1 ± 3.8 ^a	69.8 ± 6.7 ^a	57.2 ± 5.3 ^a	81.1 ± 4.1 ^b
Total nitrogen	g.kg ⁻¹		6.7 ± 0.3 ^a	5 ± 0.5 ^b	5.2 ± 0.1 ^b	6.1 ± 0.4 ^{ab}	5.7 ± 0.5 ^a	7.4 ± 0.2 ^b	6.3 ± 0.2 ^{ab}	5.2 ± 0.6 ^a	7.5 ± 0.4 ^b	5.8 ± 0.4 ^a	5.2 ± 0.5 ^a	7.5 ± 0.4 ^b
C/N	-		10.6 ± 0.3 ^a	12.2 ± 0.6 ^{ab}	14.3 ± 0.8 ^b	10.8 ± 0.2	10.7 ± 0.2	10.5 ± 0.1	10.9 ± 0.3	10.8 ± 0.3	11 ± 0.2	12 ± 0.8	10.9 ± 0.2	10.8 ± 0.1
Microbial biomass	mg C.g ⁻¹ soil		-	-	-	3.6 ± 0.5	4.7 ± 0.4	6.2 ± 1.4	4.3 ± 0.5 ^a	4.2 ± 0.5 ^a	6.9 ± 0.4 ^b	2.3 ± 0.4 ^a	2.6 ± 0.2 ^a	5.1 ± 0.7 ^b
F/B ratio	-		-	-	-	0.05 ± 0.01	-	0.05 ± 0.01	-	-	-	0.09 ± 0.02	-	0.08 ± 0.01

Table 2: Basic soil characteristics, soil microbial biomass and F/B ratio for each sampling date and experimental site.

Values represent the mean (n=5) with the associated standard error (SE). Post hoc HSD tests are only represented with different bold letters to indicate significant differences (p<0.05).

3.4. Soil microbial community structure (MCS)

The PCA based on PLFA data explained 76.9% of total MCS variance on the first two axes (66.4% and 10.5%, Fig.2). PCA ordination diagram identified two distinct non-overlapping groups of soil microbial communities corresponding to the winter and the summer samplings (Fig.2). Conversely, soil transplantation had no effect on MCS, as indicated by the close location of the centroids corresponding to the control (1350 m a.s.l.) and the lowest (570 m a.s.l.) experimental sites on the ordination map (Fig. 2). This was also confirmed by the variance partitioning analysis (ADONIS), which pointed out significant effects of sampling

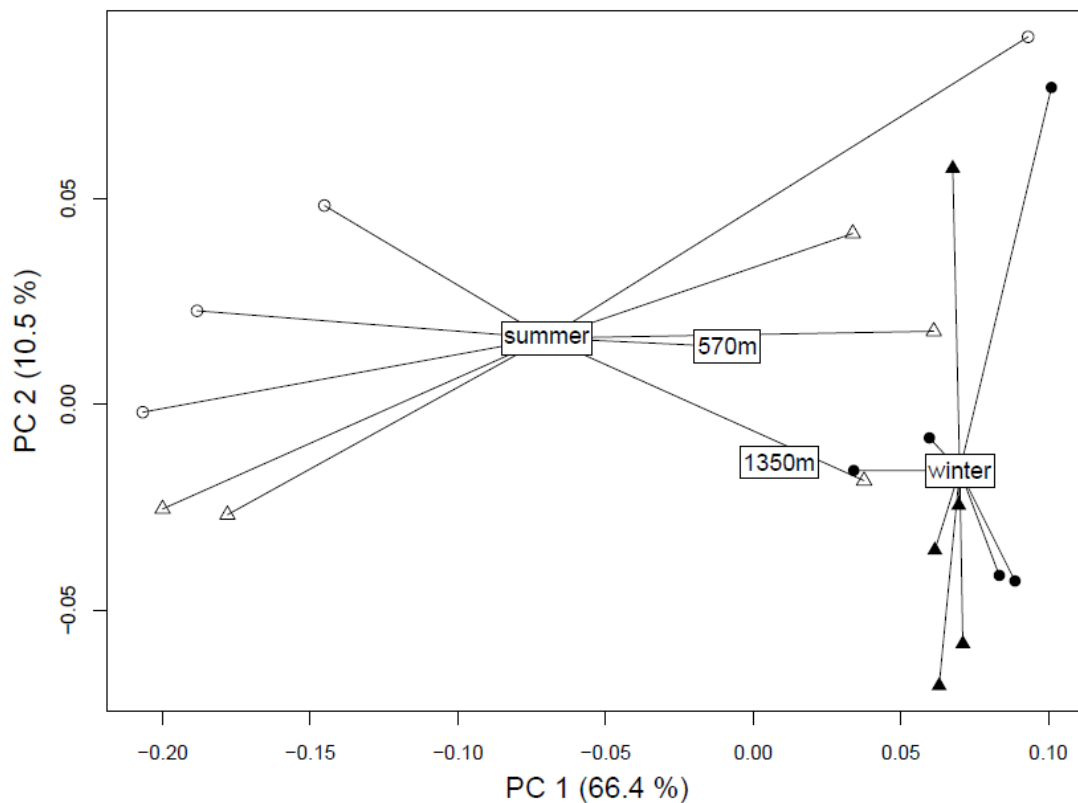


Fig.2. Principal component analysis (PCA) ordination diagram based on soil microbial community structure data (PLFAs). Centroids of season and site are written framed. Triangle = 1350 m a.s.l. site, circle = 570 m a.s.l. site; filled in = winter, empty = summer.

date ($p=0.002$, $R^2=0.30$), but neither an effect of climate manipulation ($p=0.33$) nor of the interaction between both factors ($p=0.87$) on MCS. Examination of the PCA loadings showed that PLFA cy19:0 contributed mainly to the first PCA axis, while PLFAs 20:5 ω 3, 18:1 ω 9 and

i-16:0 contributed mainly to the second PCA axis. Soil microclimate variables (temperature and moisture) were correlated with the first PCA axis ($r = 0.7$ and 0.6 , respectively, $p < 0.05$).

We observed a significant temporal variation in F/B between winter and summer, with a higher abundance of fungi microorganisms in summer than in winter (Table 2 and supplementary Table 1). Conversely, soil transplantation had no effect on F/B.

3.5. EEA on a dry soil mass basis

On a dry soil mass basis, overall microbial activity potential (FDA) was three times higher in winter and spring ($1.2 \text{ nkatal.g}^{-1}$ of soil) than in summer and autumn ($0.4 \text{ nkatal.g}^{-1}$ of soil), irrespective of site (Fig. 3).

Transplanting soils to lower altitudes significantly impacted FDA only in winter, with decreased values at the two lower experimental sites compared to the control site (1350 m a.s.l.; Supplementary Table S1, Fig. 3). For all EEAs, the sampling date effect was stronger than the effect of climate manipulation. Enzymes involved in N (LAP, NAG) and P (PHO) cycle showed clearly higher activity in autumn (Fig. 3). The same pattern is observed for the CB enzyme. Consistently with overall microbial activity (FDA), several EEA's were negatively affected by the climate manipulation, with differences in the magnitude of this negative effect depending on the sampling date (Supplementary Table S1 and Fig. 3). Interestingly, the oxidative POX enzyme was more impacted by the climate manipulation than hydrolytic enzymes, with a significant response at each sampling date (Supplementary Table S1).

3.6. Mass-specific EEA

Mass-specific EEA (potential EEA per mg MB C) were significantly different between sampling dates, with a systematic seasonal trend (Supplementary Table S1). Indeed, we found lower mass-specific EEA for all hydrolytic or oxidative enzymes, and for overall microbial activity in summer (Supplementary Fig. S1).

Climate manipulation impacted mass-specific EEA of some hydrolases in spring and summer. Conversely, no effect of soil transplantation on mass-specific EEA was observed in

winter for none of the investigated enzymes. Contrary to EEA on a dry soil mass basis, mass-specific EEA associated to oxidative reaction (POX) and the N cycle (NAG+LAP) did not differ between sites for all sampling dates (Supplementary Table S1 and Fig. S1).

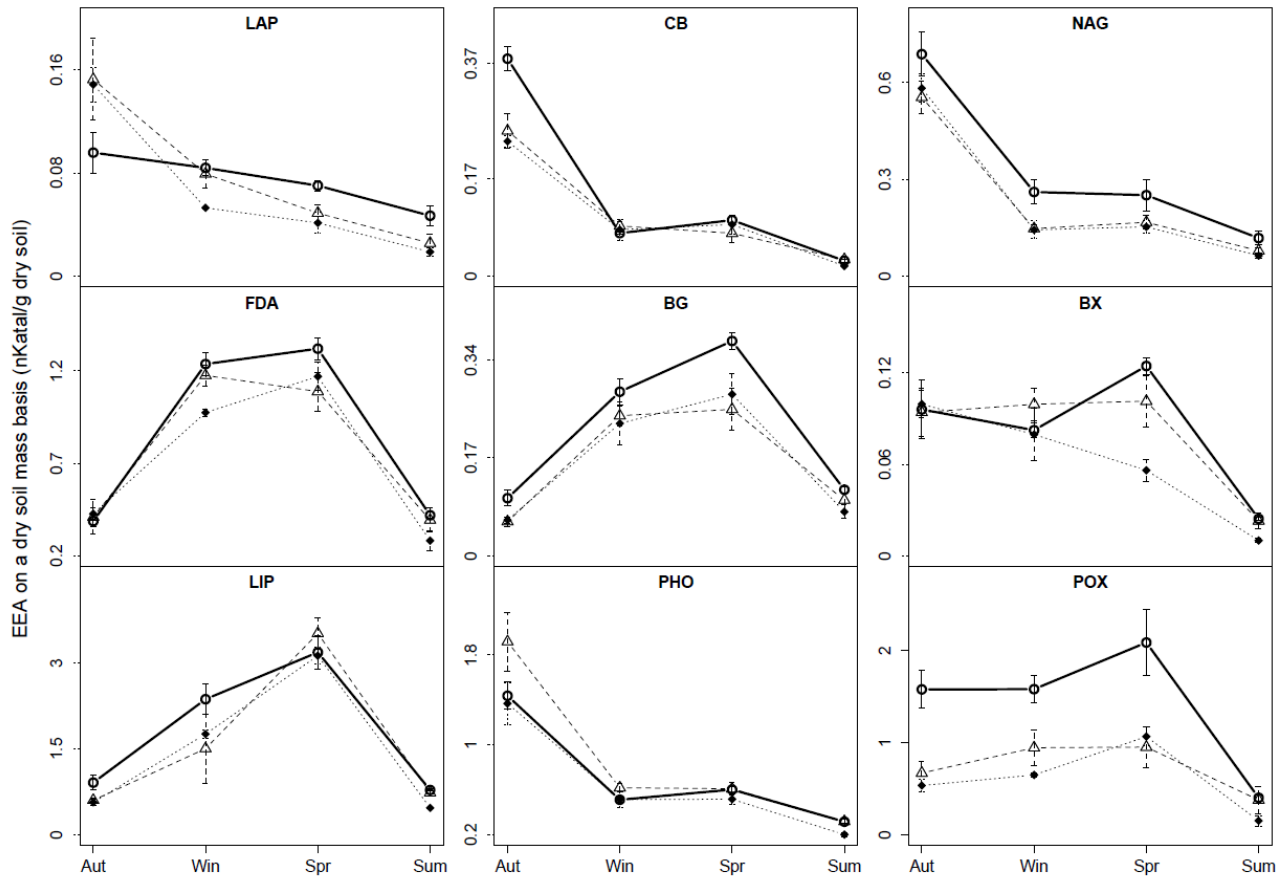


Fig.3. Soil extracellular enzymatic activities (dry soil mass basis) across seasons for each site. Error bars represent the standard errors of the mean values ($n = 5$). Circle= control site (1350 m a.s.l.); triangle = intermediate site (1010 m a.s.l.); dark square = lowest site (570 m a.s.l.). Aut, Win, Spr, Sum respectively stand for autumn, winter, spring and summer. See Table 1 for abbreviations.

3.7. Factors influencing microbial enzymatic activity

Differences between winter and summer sampling dates were mostly observed on axis 1 of RDA, while differences between experimental sites were represented on axis 1 and also on axis 2 for winter (Fig. 4). The soil EEAs were significantly explained by soil MCS (F-value = 7.2, $p = 0.008$ for PC 1 index; PC 2 index: $p = 0.08$) and also by soil MB (F-value = 6.29, $p =$

0.01). Conversely, substrate concentration and quality (SOC content and C/N) were not related to soil enzyme pool size (F-value =0.8, $p=0.41$ and F-value =0.4, $p=0.61$, respectively).

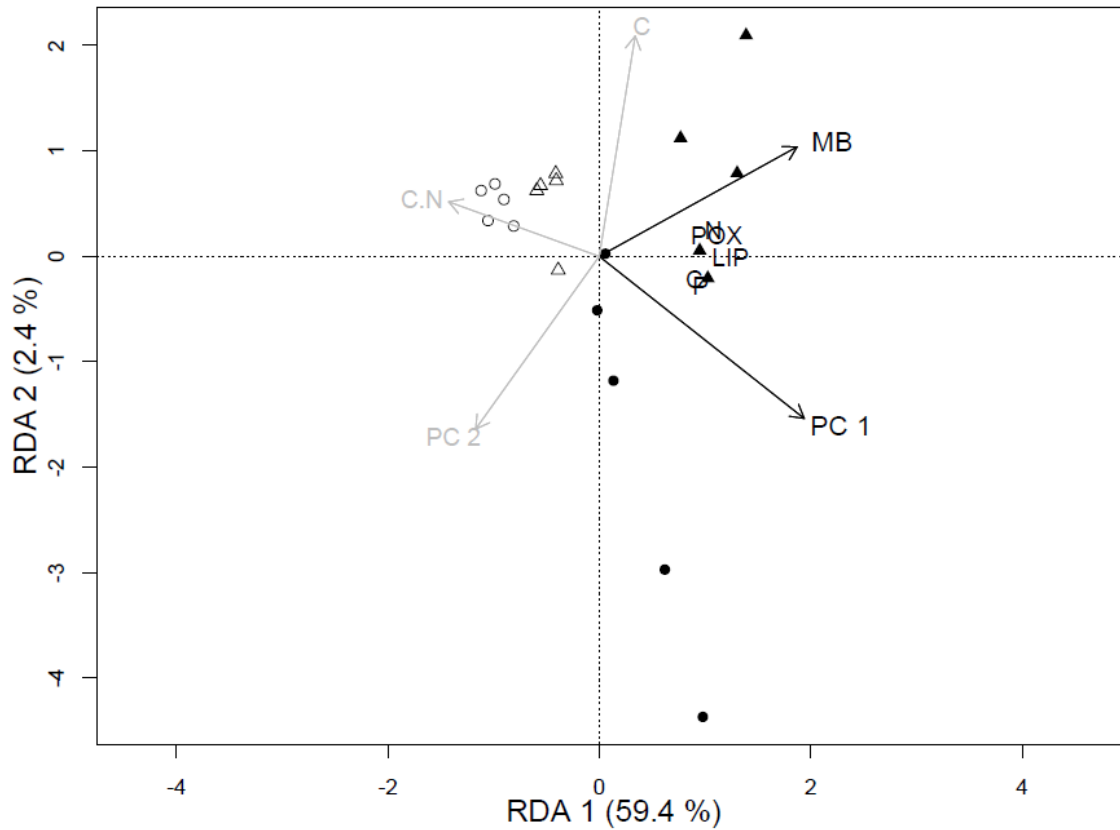


Fig.4. Redundancy analysis (RDA) of EEA (dry soil mass basis) using microbial biomass (MB), microbial community structure (PC 1; PC 2), SOC and C/N as constraining variables. Triangle = control site (1350 m a.s.l.), circle = lowest site (570 m a.s.l.); filled in = winter, empty = summer. Grey arrows and black arrows represent non-significant and significant explanatory variables, respectively ($p<0.05$).

4. Discussion

4.1. Seasonal dynamics of enzymatic activities and their relationships with microbial biomass and structure

We found a strong effect of seasonal change on microbial enzymatic activity as assessed by standard laboratory tests of potential hydrolytic and oxidative EEA. Such EEA measurements under controlled temperature conditions (27°C) provide a reliable assessment of enzyme pool size (Henry, 2013). The fact that the pool size of most soil enzymes changed seasonally is consistent with most studies on intra-annual variation of microbial enzymatic activities (Baldrian et al., 2013; Löffler et al., 2008; Wallenstein et al., 2009; Yao et al., 2011). According to other works, the season corresponding to the highest soil enzyme pool size is strongly ecosystem dependent. Indeed, several studies found higher potential EEAs in the warmer seasons (Baldrian et al., 2013; Jing et al., 2013; Löffler et al., 2008), whereas others found higher EEA in colder periods (Alster et al., 2013; Bell et al., 2010). In our study, the observed seasonal pattern in FDA showed (i) an increase in the enzyme pool size during the winter and spring, when, respectively, snow cover reduces soil micro-climate variability/amplitude and when plants draw nutrients and release root exudates; (ii) a decrease in the enzyme pool size in summer under dryer conditions and in autumn. FDA was used as an indicator of overall microbial activity, as this substrate is hydrolysed by many non-specific enzymes such as esterases, proteases and lipases (Adam and Duncan, 2001). This indicator remains, however, seldom used in soil enzyme studies which generally measure specific hydrolytic enzymes (but see e.g. Cécillon et al., 2008; Stauffer et al., 2014). In mountain ecosystems, EEA peaks typically occur at the snowmelt period (Weedon et al., 2011). Bell and colleagues (2010) suggested that in winter, microbes could increase enzyme production at low temperature so as to compensate lower enzyme reaction kinetics. Moreover, during the growing season, competition between plants and microorganisms for resources is often observed (Hu et al., 2001; Jingguo and Bakken, 1997; Yao et al., 2011; Zhang et al., 2005a), which could lead to increased enzyme production by soil microorganisms. These explanations seem to be confirmed in our study by the high mass-specific EEAs in winter and spring, as compared to summer, for most soil enzymes. This systematic seasonal trend for mass-specific EEA underlines a clear decoupling between enzyme pool size and the abundance of soil

microbes (MB) in these mountain grassland soils. Such decoupling could be linked to the strong seasonal shift in soil MCS and the fungal to bacterial ratio, higher fungal activity in summer. This emphasizes the need to explicitly distinguish enzyme pool size from microbial biomass in enzyme-based models of SOC dynamics (Steinweg et al., 2013; Wang et al., 2013), and shows that soil MB may not be a relevant proxy for soil enzyme pool size. Surprisingly, the fungal to bacterial ratio was higher in summer season contrasting with results reported by Bardgett et al. (2005) who suggested that in winter, fungi could access decomposing plant residues, while in summer bacteria are more competitive due to the availability of easily degradable root exudates. The decrease in enzyme pool size in drier summer conditions is consistent with a conceptual model (Henry et al., 2013), which shows hypothetical variations in EEA along a soil moisture gradient depending on soil drainage status. The decrease in EEA during summer is associated with a strong decrease in MB that might be related to a hydrological stress (i.e. summer drought). In autumn, soils showed a water content similar to that of winter and spring. Nevertheless, the FDA potential activity remained surprisingly very low in this season. Whilst this might have been linked to freeze thaw cycles, which are frequent in mountain grassland soils in autumn (with no snow cover), and can deeply affect soil microbial decomposition (e.g. Saccone et al., 2012), soil temperature measurements did not show any soil frost at 3 cm depth during this time (Fig. 1). Substrate availability and quality are known to be key factors in controlling EE production (Allison., 2005, Erman and Hacon., 2011), but in this study, the RDA did not reveal any link between EEA (on a dry soil mass basis) and SOC content or C/N. However, some more specific information on the actual microbial substrate (dissolved organic matter) and its chemistry could potentially explain the contrasted enzyme pool size for C, N and P cycles observed in autumn (Fig. 3; see e.g., Park et al., 2014). Indeed, our results showed contrasting responses of the various enzyme groups to seasonal changes, with a higher activity in autumn for CB, N-acquiring, and P-acquiring enzymes, while all other EEAs had their highest intensities in winter and spring. Each season is associated with a specific soil microclimate, but also a specific plant activity and secretion of root exudates and/or soil microbial substrate quality. Their combination results in contrasted MB, MCS and EEA across seasons, as previously shown (see e.g. Pascault et al., 2010; Stevenson et al., 2014; Tan et al., 2014). Overall, our results on the seasonal dynamics of these three microbial compartments are consistent with the literature, as they also showed contrasting soil MB and MCS across

seasons, which significantly explained the seasonal changes of EEAs, as revealed by the RDA (Fig. 4).

4.2. Impact of climate manipulation on microbial biomass and structure and enzymatic activities across seasons and their link with soil organic carbon dynamics

With a significant decrease under both climate change scenarios at all seasons, soil MB appeared to be the most sensitive microbial parameter to the medium term experimental climate manipulation in our study. Indeed, a decrease in topsoil MB under experimental warming is often observed in climate change experiments (Rinnan et al., 2007; Vanhala et al., 2011, but see Tan et al., 2014 ; Zhang et al., 2005b).

Conversely, we observed no modifications of soil MCS under both climate change scenarios (at the 570 and 1010 m a.s.l. experimental sites) compared to the control site (1350 m a.s.l.; Fig. 2), with no interactions between climate manipulation and seasons. This result indicates a high resistance of microbial communities to the four years experimental climate manipulation, the only changes in MCS of soil transplants being induced by temporal variations within each transplantation site. A previous investigation of the same soil transplantation experiment has revealed a strong effect of the most intensive climate change scenario on aboveground plant biomass and diversity (Gavazov et al., 2014). Thus, our results combined with Gavazov et al. (2014), hint more so towards a dominant effect of seasonality (including both seasonal variations in climate and plant activity) on MCS than an effect of plant biomass and diversity. Nonetheless, despite the fact that PLFA is a relevant method to detect changes in soil MCS (Björk et al., 2008; Waldrop and Firestone, 2006; Zeglin et al., 2013), its relatively low resolution in profiling MCS could hide finer MCS changes due to the climate manipulation. However, according to the literature, soil microbial community structure is mostly impacted by experimental climate warming and/or decreased precipitation in longer climate manipulation experiments (>10 years; Frey et al., 2008; Rinnan et al., 2007, but see Djukic et al., 2013).

Contrary to MCS, transplanting soils to lower altitudes had a moderate but significant effect on potential soil EEAs. Overall, enzyme pool size decreased under both climate change scenarios compared to the control site, with a diversity of responses depending on the enzyme and the season considered. These results on EEAs are consistent with soil respiration measurements performed in 2011 on the same soil transplantation experiment (Gavazov,

2013; Mills et al., 2014). Interestingly, the oxidative POX enzyme was more heavily affected by the climate manipulation than the hydrolytic enzymes. This highlights the need for improving our knowledge on the specific response to climate change of oxidative enzyme reactions, which are seldom assessed in soil enzyme studies (Burns et al., 2013; Hassan et al., 2013; Sinsabaugh, 2010). Our results are thus contradictory with many studies simulating climate warming, which did not show any climate manipulation impact on soil enzyme pool size (Allison and Treseder, 2008; Henry, 2013; Jing et al., 2013; Steinweg et al., 2013). However, to our knowledge, our study is the first investigation on the response of such a large panel of soil hydrolytic and oxidative enzyme pool sizes to a climate manipulation generated by a soil transplantation experiment.

Most mass-specific EEAs including FDA were significantly increased by climate manipulation, similarly to results from Steinweg et al. (2013), with a medium warming (+2°C). This suggests an adaptation of microbial communities, which increase their enzyme production under stressful conditions. However, Steinweg et al. (2013) showed a decline in mass-specific EEAs under intensive warming (ca. +3°C), which contradicts our results. In our study, we found a significant effect of climate manipulation on EEA (on both a dry soil mass basis and a mass-specific basis), which could be explained by an adaptation of microorganisms but also to other factors controlling soil enzyme pool size. For instance, the stability of soil EE can change under climate change: warming and decrease in precipitation could lead to decreased enzyme stability in soil (Burns et al., 2013). However, our enzyme assays were not suitable to investigate enzyme stability in soils.

In this study, we found a significant decrease in SOC content in the topsoil (0-10 cm) at the intermediate (in winter, spring and summer) and at the lowest experimental site (summer) compared to the control site, whereas no differences in SOC concentration were found in the topsoil layer (0-4 cm) two years before (Mills et al., 2014). This could indicate that (i) the dynamics of SOC concentration is different between the 0-4 cm and the 0-10 cm soil layers, possibly due to roots exudates dynamics, or that (ii) the effect of climate manipulation on SOC concentration became significant only on the fourth year of the experiment. Indeed, the decrease in SOC concentration in the 0-10 cm layer reached the significance threshold during the fourth year (respectively in winter 2012 and in summer 2013 at the intermediate and the lowest experimental sites).

Interestingly, the observed trends for EEAs were not consistent with the trend of SOC concentration. This highlights that the actual SOC dynamics cannot be easily predicted from the assessment of a simple proxy of SOC outputs such as potential soil enzyme activity tests. Other variables may explain the trend in SOC concentration, such as a decrease in C inputs or an increase in C leaching from the mesocosms. Indeed, Gavazov et al. (2014) and Gavazov (2013) respectively reported a decreased aboveground biomass production at the lowest site but similar yields at the intermediate site compared to the control site, and increased DOC concentration in soil solution collected by zero tension lysimeters. Overall, the discordance between our microbial parameters and the trend in SOC concentration would add to a controversial debate in soil biogeochemistry (Bradford, 2013; Brookes et al., 2009; Paterson, 2009), with emerging conceptual models on SOC turnover, which discusses the ability of microbial community characteristics such as MCS or EEA to be directly linked to SOC dynamics (Kemmitt et al., 2008).

4.3. Conclusions

We have shown in our study on mountain subalpine grassland soils of the Swiss Jura that enzyme pool size were regulated by a series of abiotic (soil temperature and moisture) and biotic (soil MB and MCS) factors. Large seasonal variations in enzyme pool size were due to the complex interaction of soil MB, MCS, soil microclimate and also potentially to plant rhizosphere activity. Conversely, the effect of the climate manipulation induced by four years altitudinal soil transplantation on EEA was neither explained by MCS change nor by SOC concentration or quality, but rather by soil microclimate and MB only. Surprisingly, the medium term loss in SOC content induced by the four years climate manipulation could not be linked to any microbial data assessed in this study. This underlines the difficulties to relate microbial information with the actual dynamics of soil carbon concentration. More research is needed on the regulation of SOM enzymatic depolymerisation by microbial communities according to climate and to substrate quantity, quality and availability, which may improve enzyme-based models of SOC dynamics.

Acknowledgements

This work has been funded by Irstea, by the CCES (Competence Center Environment and Sustainability of the ETH Domain, Switzerland) as part of the Mountland project, and supported by a grant from Labex OSUG@2020 (Investissements d'avenir – ANR10 LABX56) and by a grant from the French Ministry of Higher Education and Research (Ph.D. thesis of JP, EDISCE Doctoral School). BJMR was supported through the Netherlands Organization for Scientific Research (NWO; Research Innovation Scheme 863.10.014). The Laboratoire d'Ecologie Alpine (LECA) and T. Goïtré (Irstea) are thanked for providing the equipment and help for soil enzymes measurements. Two anonymous reviewers are thanked for their constructive comments which strongly improved this paper.

References

- Adam, G., Duncan, H., 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 943–951.
- Allison, S.D., 2005. Cheaters, diffusion and nutrients constrain decomposition by microbial enzymes in spatially structured environments. *Ecology Letters* 8, 626–635. doi:10.1111/j.1461-0248.2005.00756.x
- Allison, S.D., Treseder, K.K., 2008. Warming and drying suppress microbial activity and carbon cycling in boreal forest soils. *Global Change Biology* 14, 2898–2909. doi:10.1111/j.1365-2486.2008.01716.x
- Allison, S.D., Wallenstein, M.D., Bradford, M.A., 2010. Soil-carbon response to warming dependent on microbial physiology. *Nature Geoscience* 3, 336–340. doi:10.1038/ngeo846
- Alster, C.J., German, D.P., Lu, Y., Allison, S.D., 2013. Microbial enzymatic responses to drought and to nitrogen addition in a southern California grassland. *Soil Biology and Biochemistry* 64, 68–79. doi:10.1016/j.soilbio.2013.03.034
- Bahn, M., Rodeghiero, M., Anderson-Dunn, M., Dore, S., Gimeno, C., Drösler, M., Williams, M., Ammann, C., Berninger, F., Flechard, C., Jones, S., Balzarolo, M., Kumar, S., Newesely, C., Priwitzer, T., Raschi, A., Siegwolf, R., Susiluoto, S., Tenhunen, J., Wohlfahrt, G., Cernusca, A., 2008. Soil Respiration in European Grasslands in Relation to Climate and Assimilate Supply. *Ecosystems* 11, 1352–1367. doi:10.1007/s10021-008-9198-0
- Baldrian, P., Šnajdr, J., Merhautová, V., Dobiášová, P., Cajthaml, T., Valášková, V., 2013. Responses of the extracellular enzyme activities in hardwood forest to soil temperature and seasonality and the potential effects of climate change. *Soil Biology and Biochemistry* 56, 60–68. doi:10.1016/j.soilbio.2012.01.020
- Bardgett, R.D., Bowman, W.D., Kaufmann, R., Schmidt, S.K., 2005. A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends in Ecology & Evolution* 20, 634–41. doi:10.1016/j.tree.2005.08.005

- Bardgett, R.D., Lovell, R.D., Hobbs, P.J., Jarvis, S.C., 1999. Seasonal changes in soil microbial communities along a fertility gradient of temperate grasslands. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 1021–1030.
- Bell, T.H., Klironomos, J.N., Henry, H.A.L., 2010. Seasonal Responses of Extracellular Enzyme Activity and Microbial Biomass to Warming and Nitrogen Addition. *Soil Science Society of America Journal* 74, 820. doi:10.2136/sssaj2009.0036
- Bengtson, P., Bengtsson, G., 2007. Rapid turnover of DOC in temperate forests accounts for increased CO₂ production at elevated temperatures. *Ecology letters* 10, 783–90. doi:10.1111/j.1461-0248.2007.01072.x
- Björk, R.G., Björkman, M.P., Andersson, M.X., Klemmedtsson, L., 2008. Temporal variation in soil microbial communities in Alpine tundra. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 266–268. doi:10.1016/j.soilbio.2007.07.017
- Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37, 911–917.
- Bond-Lamberty, B., Thomson, A., 2010. A global database of soil respiration data. *Biogeosciences* 7, 1915–1926. doi:10.5194/bg-7-1915-2010
- Börjesson, G., Sundh, I., Tunlid, A., Svensson, B.H., 1998. Methane oxidation in landfill cover soils, as revealed by potential oxidation measurements and phospholipid fatty acid analyses. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1423–1433.
- Bradford, M.A., 2013. Thermal adaptation of decomposer communities in warming soils. *Frontiers in Microbiology* 4, 333. doi:10.3389/fmicb.2013.00333
- Brookes, P.C., Kemmitt, S.J., Addiscott, T.M., Bird, N., 2009. Reply to Kuzyakov et al.'s comments on our paper: “Kemmitt, S. Lanyon, C. V., Waite, I.S., Wen, Q., O'Donnell, A.G., Brookes, P.C., 2008. Mineralization of native soil organic matter is not regulated by the size, activity or composition of the soil microbial biomass – a new perspective 40, 61-73”. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 440–443. doi:10.1016/j.soilbio.2008.09.002
- Brookes, P.C., Landman, A., Pruden, G., Jenkinson, D.S., 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 17, 837–842.

- Budge, K., Leifeld, J., Egli, M., Fuhrer, J., 2011. Soil microbial communities in (sub)alpine grasslands indicate a moderate shift towards new environmental conditions 11 years after soil translocation. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1148–1154. doi:10.1016/j.soilbio.2011.02.001
- Burns, R.G., DeForest, J.L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R.L., Stromberger, M.E., Wallenstein, M.D., Weintraub, M.N., Zoppini, A., 2013. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry* 58, 216–234. doi:10.1016/j.soilbio.2012.11.009
- C2SM, 2011. Swiss Climate Change Scenarios CH2011. doi:10.3929/ethz-a-006720559
- Cécillon, L., Cassagne, N., Czarnes, S., Gros, R., Brun, J.-J., 2008. Variable selection in near infrared spectra for the biological characterization of soil and earthworm casts. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 1975–1979. doi:10.1016/j.soilbio.2008.03.016
- Chowdhury, T.R., Dick, R.P., 2012. Standardizing methylation method during phospholipid fatty acid analysis to profile soil microbial communities. *Journal of Microbiological Methods* 88, 285–291.
- Conant, R.T., Ryan, M.G., Ågren, G.I., Birge, H.E., Davidson, E.A., Eliasson, P.E., Evans, S.E., Frey, S.D., Giardina, C.P., Hopkins, F.M., Hyvönen, R., Kirschbaum, M.U.F., Lavalley, J.M., Leifeld, J., Parton, W.J., Megan Steinweg, J., Wallenstein, M.D., Martin Wetterstedt, J.Å., Bradford, M.A., 2011. Temperature and soil organic matter decomposition rates - synthesis of current knowledge and a way forward. *Global Change Biology* 17, 3392–3404. doi:10.1111/j.1365-2486.2011.02496.x
- Davidson, E.A., Janssens, I.A., 2006. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440, 165–73. doi:10.1038/nature04514
- Djukic, I., Zehetner, F., Watzinger, A., Horacek, M., Gerzabek, M.H., 2013. In situ carbon turnover dynamics and the role of soil microorganisms therein: a climate warming study in an Alpine ecosystem. *FEMS Microbiology Ecology* 83, 112–24. doi:10.1111/j.1574-6941.2012.01449.x
- Dray, S., Dufour, A.B., 2007. The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software* 22, 1 – 20.

- Erman, D.O.P.G., Hacon, S.T.S.C., 2011. Substrate concentration and enzyme allocation can affect rates of microbial decomposition. *Ecology* 92, 1471–1480.
- Floch, C., Alarcon-Gutiérrez, E., Criquet, S., 2007. ABTS assay of phenol oxidase activity in soil. *Journal of Microbiological Methods* 71, 319–24. doi:10.1016/j.mimet.2007.09.020
- Frei, C., Schöll, R., Fukutome, S., Schmidli, J., Vidale, P.L., 2006. Future change of precipitation extremes in Europe: Intercomparison of scenarios from regional climate models. *Journal of Geophysical Research* 111, D06105. doi:10.1029/2005JD005965
- Frey, S.D., Drijber, R., Smith, H., Melillo, J., 2008. Microbial biomass, functional capacity, and community structure after 12 years of soil warming. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2904–2907. doi:10.1016/j.soilbio.2008.07.020
- Gavazov, K., 2013. Subalpine Pasture-Woodlands in a Changing Climate: the Role of Land Use Type in Ecosystem Resistance to Simulated Climate Change. Thesis EPFL 5989. Lausanne, Switzerland.
- Gavazov, K., Peringer, A., Buttler, A., Gillet, F., Spiegelberger, T., 2013. Dynamics of Forage Production in Pasture-woodlands of the Swiss Jura Mountains under Projected Climate Change Scenarios. *Ecology and Society* 18, art38. doi:10.5751/ES-04974-180138
- Gavazov, K., Spiegelberger, T., Buttler, A., 2014. Transplantation of subalpine wood-pasture turfs along a natural climatic gradient reveals lower resistance of unwooded pastures to climate change compared to wooded ones. *Oecologia* 174, 1425–35. doi:10.1007/s00442-013-2839-9
- German, D.P., Weintraub, M.N., Grandy, A.S., Lauber, C.L., Rinkes, Z.L., Allison, S.D., 2011. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1387–1397. doi:10.1016/j.soilbio.2011.03.017
- Green, V.S., Stott, D.E., Diack, M., 2006. Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 693–701. doi:10.1016/j.soilbio.2005.06.020
- Hassan, W., Chen, W., Cai, P., Huang, Q., 2013. Oxidative Enzymes, the Ultimate Regulator: Implications for Factors Affecting Their Efficiency. *Journal of Environmental Quality* 42, 1779–1790.

- Henry, H.A.L., 2013. Reprint of “Soil extracellular enzyme dynamics in a changing climate”. *Soil Biology and Biochemistry* 56, 53–59. doi:10.1016/j.soilbio.2012.10.022
- Hu, S., Chapin, F.S., Firestone, M.K., Field, C.B., Chiariello, N.R., 2001. Nitrogen limitation of microbial decomposition in a grassland under elevated CO₂. *Nature* 409, 188–91. doi:10.1038/35051576
- IUSS Working Group WRB. 2007. World Reference Base for Soil Resources 2006, first update 2007. World Soil Resources Reports No. 103. FAO, Rome.
- Jing, X., Wang, Y., Chung, H., Mi, Z., Wang, S., Zeng, H., He, J.-S., 2013. No temperature acclimation of soil extracellular enzymes to experimental warming in an alpine grassland ecosystem on the Tibetan Plateau. *Biogeochemistry* 117, 39–54. doi:10.1007/s10533-013-9844-2
- Jingguo, W., Bakken, L.R., 1997. Competition for nitrogen during mineralization of plant residues in soil: Microbial response to C and N availability. *Soil Biology and Biochemistry* 29, 163–170. doi:10.1016/S0038-0717(96)00292-1
- Kemmitt, S.J., Lanyon, C.V., Waite, I.S., Wen, Q., Addiscott, T.M., Bird, N.R.A., O'Donnell, A.G., Brookes, P.C., 2008. Mineralization of native soil organic matter is not regulated by the size, activity or composition of the soil microbial biomass—a new perspective. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 61–73. doi:10.1016/j.soilbio.2007.06.021
- Lawrence, C.R., Neff, J.C., Schimel, J.P., 2009. Does adding microbial mechanisms of decomposition improve soil organic matter models? A comparison of four models using data from a pulsed rewetting experiment. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 1923–1934. doi:10.1016/j.soilbio.2009.06.016
- Legendre, P., Gallagher, E., 2001. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia* 129, 271–280. doi:10.1007/s004420100716
- Lipson, D.A., Schmidt, S.K., 2004. Seasonal Changes in an Alpine Soil Bacterial Community in the Colorado Rocky Mountains Seasonal Changes in an Alpine Soil Bacterial Community in the Colorado Rocky Mountains. *Applied and Environmental Microbiology* 70, 2867–2879. doi:10.1128/AEM.70.5.2867

- Löffler, U.C.M., Cypionka, H., Löffler, J., 2008. Soil microbial activity along an arctic-alpine altitudinal gradient from a seasonal perspective. *European Journal of Soil Science* 59, 842–854. doi:10.1111/j.1365-2389.2008.01054.x
- Marx, M., Wood, M., Jarvis, S., 2001. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1633–1640.
- McGuire, K.L., Treseder, K.K., 2010. Microbial communities and their relevance for ecosystem models: Decomposition as a case study. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 529–535. doi:10.1016/j.soilbio.2009.11.016
- Meehl, G.A., T.F. Stocker, W.D. Collins, P. Friedlingstein, A.T. Gaye, J.M. Gregory, A. Kitoh, R. Knutti, J.M. Murphy, A. Noda, S.C.B. Raper, I.G. Watterson, A.J. Weaver and Z.-C. Zhao, 2007: Global Climate Projections. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA
- Mills, R.T.E., Gavazov, K.S., Spiegelberger, T., Johnson, D., Buttler, A., 2014. Diminished soil functions occur under simulated climate change in a sup-alpine pasture, but heterotrophic temperature sensitivity indicates microbial resilience. *Science of the Total Environment* 473-474, 465–72. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.12.071
- NF ISO 10693, Soil quality., 1995. Determination of carbonate content. Volumetric method. AFNOR.
- NF ISO 10690, Soil quality., 2005. Determination of pH. AFNOR
- NF ISO 10694, Soil quality., 1995. Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis). AFNOR.
- NF ISO 11464, Soil quality., 2006. Pretreatment of samples for physico-chemical analysis. AFNOR.
- NF ISO 13878, Soil quality., 1995. Determination of total nitrogen content by dry combustion ("elemental analysis"). AFNOR.

NF ISO 16586, Soil quality., 2003. Determination of soil water content as a volume fraction on the basis of known dry bulk density - Gravimetric method. AFNOR.

Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Wagner, H., 2013. vegan: Community Ecology Package. R package version 2.0-10. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>

Park, J.-H., Meusburger, K., Jang, I., Kang, H., Alewell, C., 2014. Erosion-induced changes in soil biogeochemical and microbiological properties in Swiss Alpine grasslands. *Soil Biology and Biochemistry* 69, 382–392. doi:10.1016/j.soilbio.2013.11.021

Pascual, N., Cécillon, L., Mathieu, O., Hénault, C., Sarr, A., Lévêque, J., Farcy, P., Ranjard, L., Maron, P.-A., 2010. *In situ* dynamics of microbial communities during decomposition of wheat, rape, and alfalfa residues. *Microbial Ecology* 60, 816–828. doi:10.1007/s00248-010-9705-7

Paterson, E., 2009. Comments on the regulatory gate hypothesis and implications for C-cycling in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 1352–1354. doi:10.1016/j.soilbio.2009.02.012

Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., Core, T.R., 2014. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-117, <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>.

Rinnan, R., Michelsen, A., Bååth, E., Jonasson, S., 2007. Fifteen years of climate change manipulations alter soil microbial communities in a subarctic heath ecosystem. *Global Change Biology* 13, 28–39. doi:10.1111/j.1365-2486.2006.01263.x

Robroek, B.J.M., Heijboer, A., Jassey, V.E.J., Hefting, M.M., Rouwenhorst, T.G., Buttler, A., Bragazza, L., 2012. Snow cover manipulation effects on microbial community structure and soil chemistry in a mountain bog. *Plant and Soil* 369, 151–164. doi:10.1007/s11104-012-1547-2

Saccone, P., Morin, S., Baptist, F., Bonneville, J.-M., Colace, M.-P., Domine, F., Faure, M., Geremia, R., Lochet, J., Poly, F., Lavorel, S., Clément, J.-C., 2012. The effects of snowpack properties and plant strategies on litter decomposition during winter in subalpine meadows. *Plant and Soil* 363, 215–229. doi:10.1007/s11104-012-1307-3

- Saenger, A., Cécillon, L., Sebag, D., Brun, J.-J., 2013. Soil organic carbon quantity, chemistry and thermal stability in a mountainous landscape: A Rock–Eval pyrolysis survey. *Organic Geochemistry* 54, 101–114. doi:10.1016/j.orggeochem.2012.10.008
- Schindlbacher, A., Rodler, A., Kuffner, M., Kitzler, B., Sessitsch, A., Zechmeister-Boltenstern, S., 2011. Experimental warming effects on the microbial community of a temperate mountain forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1417–1425. doi:10.1016/j.soilbio.2011.03.005
- Sinsabaugh, R.L., 2010. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 391–404. doi:10.1016/j.soilbio.2009.10.014
- Sjögersten, S., Alewell, C., Cécillon, L., Hagedorn, F., Jandl, R., Leifeld, J., Martinsen, V., Schindlbacher, A., Sebastià, M.-T., van Miegroet, H., 2011. Mountain soils in a changing climate – vulnerability of C stocks and ecosystem feedbacks, in: *Soil Carbon in Sensitive European Ecosystems: From Science to Land Management*. Wiley-Blackwell. pp. 118–148.
- Stauffer, M., Leyval, C., Brun, J.-J., Leportier, P., Berthelin, J., 2014. Effect of willow short rotation coppice on soil properties after three years of growth as compared to forest, grassland and arable land uses. *Plant and Soil* 377, 423–438. doi:10.1007/s11104-013-1986-4
- Steger, K., Jarvis, Å., Smårs, S., Sundh, I., 2003. Comparison of signature lipid methods to determine microbial community structure in compost. *Journal of Microbiological Methods* 55, 371–382.
- Steinweg, J.M., Dukes, J.S., Paul, E.A., Wallenstein, M.D., 2013. Microbial responses to multi-factor climate change: effects on soil enzymes. *Frontiers in Microbiology* 4, 146. doi:10.3389/fmicb.2013.00146
- Stevenson, B.A., Hunter, D.W.F., Rhodes, P.L., 2014. Temporal and seasonal change in microbial community structure of an undisturbed, disturbed, and carbon-amended pasture soil. *Soil Biology and Biochemistry*. doi:10.1016/j.soilbio.2014.04.010
- Sundh, I., Nilsson, M., Borga, P., 1997. Variation in microbial community structure in two boreal peatlands as determined by analysis of phospholipid Fatty Acid profiles. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 1476–1482.

- Tan, B., Wu, F., Yang, W., He, X., 2014. Snow removal alters soil microbial biomass and enzyme activity in a Tibetan alpine forest. *Applied Soil Ecology* 76, 34–41. doi:10.1016/j.apsoil.2013.11.015
- Ullrich, R., Nüske, J., 2004. Novel haloperoxidase from the agaric basidiomycete *Agrocybe aegerita* oxidizes aryl alcohols and aldehydes. *Applied and Environmental Microbiology* 70, 4575–4581. doi:10.1128/AEM.70.8.4575–4581.2004
- Vanhala, P., Karhu, K., Tuomi, M., Björklöf, K., Fritze, H., Hyvärinen, H., Liski, J., 2011. Transplantation of organic surface horizons of boreal soils into warmer regions alters microbiology but not the temperature sensitivity of decomposition. *Global Change Biology* 17, 538–550. doi:10.1111/j.1365-2486.2009.02154.x
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 703–707 doi:10.1016/0038-0717(87)90052-6
- Waldrop, M.P., Firestone, M.K., 2006. Seasonal dynamics of microbial community composition and function in oak canopy and open grassland soils. *Microbial Ecology* 52, 470–9. doi:10.1007/s00248-006-9100-6
- Wallenstein, M.D., McMahon, S.K., Schimel, J.P., 2009. Seasonal variation in enzyme activities and temperature sensitivities in Arctic tundra soils. *Global Change Biology* 15, 1631–1639. doi:10.1111/j.1365-2486.2008.01819.x
- Wang, G., Post, W.M., Mayes, M.A., 2013. Development of microbial-enzyme-mediated decomposition model parameters through steady-state and dynamic analyses. *Ecological Applications* 23, 255–72.
- Weedon, J.T., Aerts, R., Kowalchuk, G.A., van Bodegom, P.M., 2011. Enzymology under global change: organic nitrogen turnover in alpine and sub-Arctic soils. *Biochemical Society Transactions* 39, 309–14. doi:10.1042/BST0390309
- Yao, H., Bowman, D., Shi, W., 2011. Seasonal variations of soil microbial biomass and activity in warm- and cool-season turfgrass systems. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1536–1543. doi:10.1016/j.soilbio.2011.03.031

Zeglin, L.H., Bottomley, P.J., Jumpponen, a, Rice, C.W., Arango, M., Lindsley, a, McGowan, a, Mfombep, P., Myrold, D.D., 2013. Altered precipitation regime affects the function and composition of soil microbial communities on multiple time scales. *Ecology* 94, 2334–45.

Zhang, W., Parker, K.M., Luo, Y., Wan, S., Wallace, L.L., Hu, S., 2005a. Soil microbial responses to experimental warming and clipping in a tallgrass prairie. *Global Change Biology* 11, 266–277. doi:10.1111/j.1365-2486.2005.00902.x

Supplementary data :

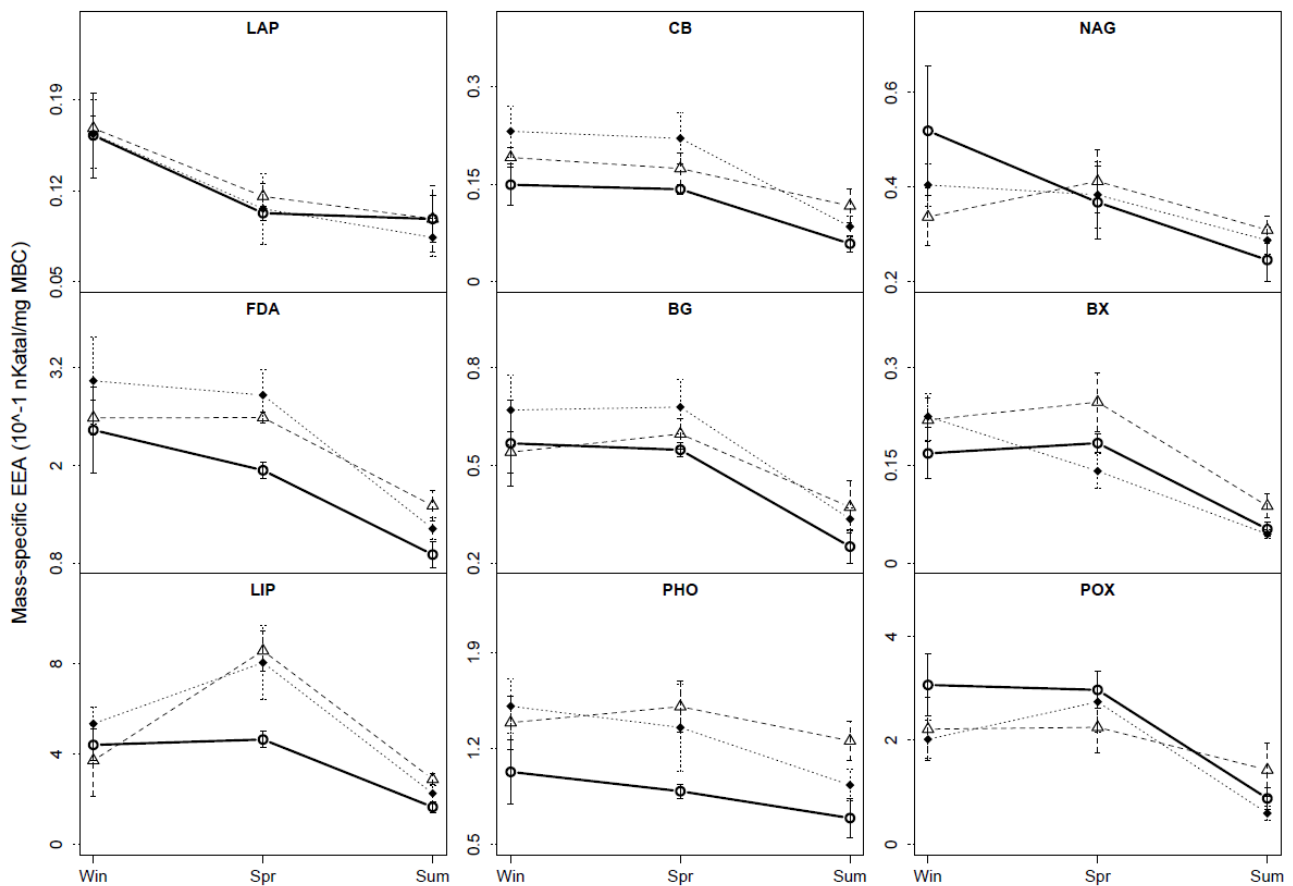


Fig.S1. Mass-specific soil extracellular enzymes activities across seasons for each site. Error bars represent the standard errors of the mean values (n = 5). Circle= control site (1350 m a.s.l.); triangle = intermediate site (1010 m a.s.l.); dark square = lowest site (570 m a.s.l.). Win, Spr, Sum respectively stand for winter, spring and summer. See Table 1 for abbreviations.

	sampling date		altitude		altitude x sampling		autumn		winter		spring		summer	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Soil Characteristics														
Soil moisture	161.0	***	11.0	**	1.1	0.4	2.7	0.1	3.6	0.1	4.5	*	23.2	***
Soil field moisture (3 cm)	120.0	***	6.3	*	2.0	0.1	3.4	0.1	1.2	0.3	9.5	**	11.1	**
Soil temperature	5033.0	***	100.0	***	69.0	***	138.0	***	1.2	0.4	91.6	***	101.1	***
pH [H2O]	1.7	0.2	4.6	*	3.8	**	7.2	**	0.6	0.6	1.5	0.3	0.8	0.5
Organic carbon	0.0	1.0	7.6	**	0.6	0.8	1.5	0.3	4.3	*	7.0	*	4.3	*
Organic nitrogen	4.1	*	6.6	*	5.7	**	4.9	*	4.2	*	6.7	*	6.2	*
C/N ratio	10.3	***	1.8	0.2	7.0	***	10.1	**	0.8	0.5	0.1	0.9	2.1	0.2
Microbial biomass (MB)	9.6	***	14.4	***	0.9	0.5	-	-	2.1	0.2	9.9	**	10.6	**
F/B ratio	12.3	**	0.3	0.6	0.0	0.9	-	-	0.3	0.6	-	-	0.2	0.7
EEA														
LAP	51.0	***	4.6	*	4.2	**	2.5	0.1	7.7	**	5.2	*	5.4	*
CB	192.0	***	2.1	0.2	2.2	0.1	8.0	*	0.4	0.7	1.0	0.4	4.3	*
NAG	149.0	***	7.4	**	0.9	0.5	1.7	0.2	5.7	*	2.6	0.1	4.3	*
FDA	278.0	***	1.5	0.3	2.9	*	0.2	0.8	8.3	**	2.3	0.1	3.2	0.1
BG	82.0	***	8.7	**	0.5	0.8	4.5	*	1.2	0.3	3.8	0.1	1.7	0.2
BX	90.0	***	10.6	**	3.1	*	0.1	0.9	0.9	0.4	11.7	**	8.6	**
LIP	90.0	***	1.9	0.2	1.2	0.3	5.3	*	1.4	0.3	0.7	0.5	20.9	***
PHO	169.0	***	9.6	**	1.4	0.3	2.2	0.1	1.7	0.2	1.5	0.3	9.1	**
POX	53.0	***	14.0	***	2.7	*	15.7	***	11.5	**	6.6	*	4.8	*
Mass-specific EEA														
LAP	11.8	***	0.2	0.8	0.1	1.0	-	-	0.1	0.9	0.2	0.9	0.1	0.9
CB	21.3	***	3.7	*	0.8	0.5	-	-	1.8	0.2	1.4	0.3	4.6	*
NAG	4.5	*	0.0	1.0	1.2	0.3	-	-	0.8	0.5	0.1	0.9	0.9	0.5
FDA	35.7	***	6.3	*	0.8	0.6	-	-	0.6	0.6	8.5	**	4.0	*
BG	17.9	***	1.4	0.3	0.4	0.8	-	-	0.5	0.6	1.2	0.3	1.1	0.4
BX	35.2	***	3.2	0.1	1.3	0.3	-	-	0.7	0.5	3.0	0.1	3.4	0.1
LIP	21.3	***	3.0	0.1	1.9	0.1	-	-	0.6	0.6	10.0	**	4.6	*
PHO	3.4	*	8.4	**	0.4	0.8	-	-	1.7	0.2	2.8	0.1	5.1	*
POX	24.8	***	1.3	0.3	1.7	0.2	-	-	1.0	0.4	1.4	0.3	2.2	0.2

Supplementary Table 1: Left hand side: effects of sampling date, climate manipulation and interactions of both factors on basic soil characteristics, F/B, MB and EEAs (overall repeated measures ANOVA tests); right hand side: within season effect of climate manipulation on basic soil characteristics, MB and EEAs (one-way ANOVA tests). Significance codes for ANOVA's are (*) $p < 0.001$; (**) $p < 0.01$; (*) $p < 0.05$.**

IV. Principaux résultats

A la suite de quatre années de manipulation climatique (transplantation de sol) visant à réchauffer et assécher le climat annuel on observe :

- Une baisse significative de l'activité enzymatique potentielle de plusieurs enzymes extracellulaires du sol sous l'effet des deux scénarios climatiques simulés. La significativité et l'amplitude des réponses observées dépendent des saisons et des enzymes considérées. La saison estivale correspond à celle où l'on observe une diminution significative de l'activité enzymatique sur le plus grand nombre d'enzymes. De plus, la manipulation climatique n'a pas modifié la dynamique saisonnière des activités enzymatiques.
- Une réponse plus importante en termes d'amplitude et de significativité de l'enzyme oxydative étudiée (phénoloxydase) par rapport aux sept hydrolases étudiées. Il est à noter que l'activité enzymatique de la phénoloxydase a été déterminée à l'aide d'une méthode mesurant l'activité par absorbance ce qui diffère des méthodes fluorimétriques utilisées pour les hydrolases.
- Une forte réduction de l'abondance des communautés microbiennes sous l'effet de la manipulation climatique. Cette diminution de la biomasse microbienne est accrue en été. L'abondance des communautés microbiennes est alors deux fois moins importante qu'au site contrôle. La tendance observée est la même quelle que soit la saison, bien que celle-ci ne soit pas significative en hiver sous le manteau neigeux.
- Aucun effet significatif de la manipulation climatique n'est observé sur la structure des communautés microbiennes identifiées par extraction des PLFA du sol. Il s'avère également que la manipulation climatique ne module pas l'effet saisonnier (hiver/été) observé sur la structure des communautés microbiennes.
- Les effets de la manipulation climatique sur les concentrations en C du sol ne vont pas dans le même sens que les effets mesurés sur les activités enzymatiques. En effet, malgré une diminution des activités enzymatiques potentielles, la manipulation climatique engendre une diminution de la concentration en carbone du sol pour le site intermédiaire (1010m) et le site de basse altitude (570m). Cette tendance devient significative pour les deux sites lors de la dernière date d'échantillonnage (été 2013).

Au cours du suivi de la quatrième année de manipulation climatique (transplantation de sol) on constate une forte dynamique microbienne saisonnière qui se traduit par :

- Une très grande hétérogénéité de l'activité enzymatique globale (FDA) suivant la saison considérée et observée. En hiver, sous le manteau neigeux et au printemps suite à la fonte des neiges, l'activité enzymatique potentielle globale (le pool global d'enzymes présent dans le sol) est à son plus haut niveau. Au contraire, la saison automnale et estivale est caractérisée par un pool d'enzymes global beaucoup plus faible (2 à 3 fois moins important). Cette tendance est observée quelles que soient les enzymes étudiées excepté pour la saison automnale qui présente un comportement particulier. En effet, en automne l'activité enzymatique mesurée dépend fortement des enzymes. Les enzymes reliées à la décomposition des MO azotées et du phosphore présentent les taux annuels d'activités enzymatiques les plus élevés en automne. Il en va de même en automne, pour la cellulase, l'hémicellulase et la phénoloxidase ou l'activité enzymatique potentielle mesurée est équivalente ou supérieure à celle mesurée en hiver et/ou au printemps
- L'abondance des communautés microbiennes varie grandement entre la saison estivale et les saisons hiver/printemps. En effet on constate une forte diminution de la biomasse microbienne en été. Il est à noter que cette diminution de la biomasse microbienne en été est moins marquée pour le site contrôle.
- Au cours de l'année la structure des communautés microbiennes évolue. En effet, la structure des communautés microbiennes est significativement différente entre la saison hivernale et la saison estivale. Cette évolution des communautés microbiennes est liée à un changement du ratio champignons/bactéries avec une abondance relative plus importante des communautés fongiques en été et des communautés bactériennes en hiver.
- Les activités enzymatiques mesurées ramenées par quantité de biomasse microbienne (activité enzymatique spécifique) montrent de fortes différences saisonnières. En été les activités enzymatiques spécifiques sont les plus faibles. Ce résultat témoigne de la différence de production enzymatique par unité microbienne en fonction des saisons (différentes stratégies).

V. Discussion

Ce premier chapitre permet de mettre en lumière les multiples effets engendrés par les changements des conditions climatiques sur les activités microbiennes de décomposition en prairie subalpine dans un contexte de moyenne montagne calcaire. Ces changements climatiques sont ici d'origine naturelle (variation saisonnière) et aussi induits par une manipulation climatique (transplantation de sol). Il est cependant parfois difficile de dissocier les effets directs du climat de ses effets indirects. Les effets directs des conditions climatiques modifient directement la cinétique, la production et la diffusion et lixiviation des enzymes extracellulaires du sol par le biais de modification de température et d'humidité du sol (Burns et al., 2013). Les effets des conditions climatiques sur la physiologie et la résistance/adaptation des communautés microbiennes sont également considérés comme des effets directs du climat. Les effets indirects sont le résultat de modifications environnementales induites par le climat. Il peut s'agir de la modification de la chimie et de l'abondance des ressources induite par apport de MO fraîches ainsi que de leur accessibilité aux microorganismes, ou bien de compétition pour les nutriments engendrée par le fonctionnement du compartiment végétal aérien ou souterrain (rhizosphère) (Burns 2013). Outre l'aspect indirect du climat sur la disponibilité de la ressource, des modifications de conditions environnementales telles que le pH ou la porosité du sol peuvent être engendrées par modification de l'abondance et la composition de la communauté végétale (Mouhamadou et al., 2013 ; Millard and Singh 2010 ; Bais et al., 2006). Cette discussion permet de comprendre les principaux résultats de notre étude, d'en souligner les limites et de proposer des perspectives au regard de notre hypothèse de départ.

HYPOTHESE I : L'activité microbienne de décomposition de la MOS est fortement affectée par les fluctuations des conditions climatiques. Ces modifications sont liées à une profonde modification des quantités de microorganismes et de la structure des communautés microbiennes du sol.

1. Une dynamique microbienne saisonnière très prononcée

La variation intra-annuelle des activités enzymatiques potentielles (ou abondance) du sol s'est avérée être extrêmement marquée, comme l'ont montré de nombreuses études (Baldrian et al., 2013 ; Löffler et al., 2008 ; Wallenstein et al., 2009 ; Yao et al., 2011). Le fait d'observer une forte réduction des activités enzymatiques de l'ensemble des enzymes étudiées en été met en lumière le rôle primordial de l'humidité du sol. A partir d'une certaine valeur d'humidité du sol, il pourrait s'agir d'un effet seuil où la préservation de conditions environnementales permettant le développement des microorganismes et la production des enzymes à travers le sol n'est plus assurée (Steinweg et al., 2012 ; Baldrian et al., 2010). Nos résultats viennent apporter un complément à la littérature sur les effets d'une sécheresse sur les activités enzymatiques potentielles (EEA) qui sont parfois contradictoires (Sardans et Peñuelas, 2010 ; Bell et Henry, 2011 ; Geisseler et al., 2011). Cependant, nos résultats obtenus dans un sol bien drainé (prairie mésique subalpine) confirment et soulignent le rôle exercé par l'humidité du sol sur les EEA comme proposé par le modèle hypothétique de Henry (2013) (Fig.34 Modèle b).

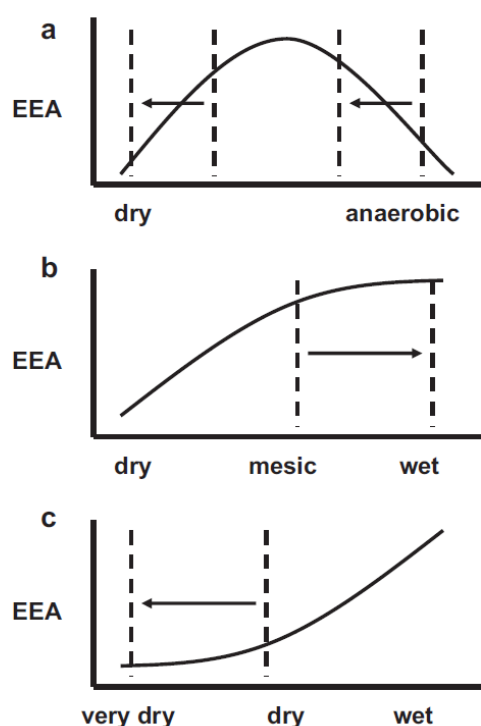


Figure 34 : Variation hypothétique des EEA le long d'un gradient d'humidité et en fonction du type de sol (Henry, 2013). a) Sol très peu drainé, b) sol bien drainé, c) sol aride.

L'activité enzymatique accrue observée en hiver confirme l'importance du manteau neigeux dans le fonctionnement du sol des écosystèmes alpins ou boréaux (Robroek et al., 2012 ; Zinger, 2009, Brooks et al., 2005, Zhang et al., 2005). Il est généralement reporté une estimation de l'activité par mesure de respiration équivalente de 10 à 50% de l'activité totale annuelle (Liptzin et al., 2009). Ces résultats soulignent la vulnérabilité de ces écosystèmes en raison de la réduction de la période et de l'épaisseur du manteau prévues lors du prochain siècle par les différents scénarios de réchauffements climatiques (cf chap III introduction générale). Nos résultats sont confirmés par des mesures de respiration du sol *in situ* réalisées sur la même expérimentation lors de l'hiver 2012 (Gavazov, 2013), qui ont mesuré des valeurs de respiration en hiver 2012 équivalentes à celles mesurées lors de la saison de végétation de 2011 (printemps et été). Dans notre cas la différence d'activité enzymatique entre l'hiver et l'été est marquée (2 à 3 fois plus importante). Cette différence d'amplitude de l'effet hiver/été entre les données de respiration du sol mesurées deux ans auparavant (2011) pourrait refléter une différence due à la méthode d'estimation de l'activité microbienne (respiration *in situ* vs activité enzymatique potentielle) ou refléter une variabilité interannuelle. La forte activité enzymatique observée au printemps 2013 suggère des conditions climatiques optimales (température et humidité). Enfin, en automne, les résultats très hétérogènes de la réponse des activités enzymatiques suggèrent des effets directs et indirects du climat non mesurés dans cette étude. Il peut s'agir par exemple de l'abondance des différents pools de MOS et leur chimie, ou bien de phénomènes physiques dus aux conditions climatiques tels que l'augmentation des lessivages sous l'effet de fortes pluies par exemple.

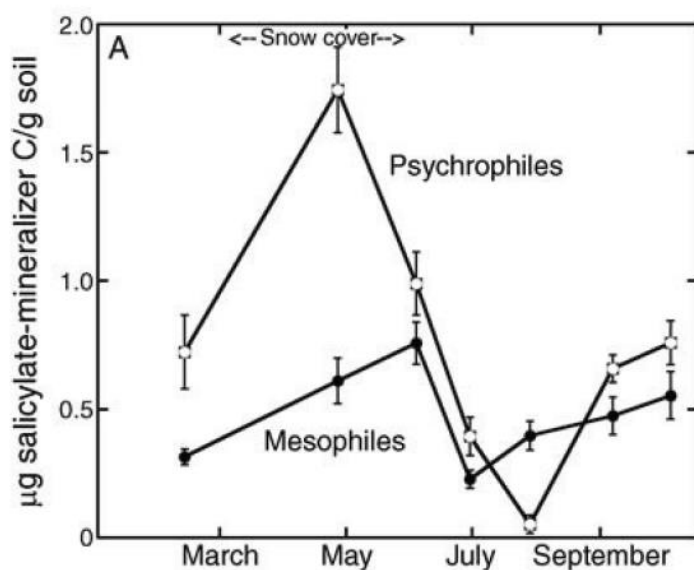


Figure.35 : Taux de minéralisation microbienne de l'acide salicylique en fonction de la saison et du type des communautés microbiennes (Schmidt et al., 2007).

Les résultats de notre étude suggèrent que la dynamique des activités enzymatiques est régulée par l'abondance des communautés qui diminuent drastiquement en été mais également par leurs structures qui changent significativement entre la saison hivernale et estivale. Dans une étude, Schmidt et al. (2007) montrent l'évolution des communautés microbiennes et de leurs activités de minéralisation en fonction des conditions climatiques (Fig.35). On constate une forte adaptation des communautés psychrophiles dans leurs aptitudes à minéraliser un substrat sous le manteau neigeux. Nos résultats coïncident avec de nombreuses études montrant le rôle du manteau en tant que filtre pour les communautés microbiennes (Zinger, 2009 ; Björk et al., 2008). De plus, l'augmentation relative des communautés fongiques en été par rapport à la saison hivernale semble suggérer des substrats différents pour les microorganismes entre les deux saisons (Bardgett et al., 2005).

Il est à noter que bien que la biomasse microbienne soit positivement liée à la dynamique des EEA mesurées, les EEA spécifiques montrent des différences entre saisons. Ce résultat intéressant pourrait être intégré dans la structure des modèles de dynamique de décomposition enzymatique des MOS (Steinweg et al., 2013 ; Wang et al., 2013). Il suggère que les EEA sont régulées par de multiples facteurs microbiens (abondance des communautés, structure des communautés) et des facteurs environnementaux (production et diversité végétale, humidité du sol limitant la diffusion ou augmentant la lixiviation par exemple). Les conditions climatiques semblent ainsi réguler les activités enzymatiques par de multiples effets directs et indirects.

2. Un effet significatif de la manipulation climatique sur l'abondance et l'activité microbienne du sol

Les activités enzymatiques potentielles observées le long de la transplantation altitudinale de sols témoignent de l'effet des deux scénarios climatiques simulés sur l'activité de décomposition de la MOS. Quelle que soit la saison, l'effet du climat simulé (plus chaud et plus sec) entraîne une diminution des activités enzymatiques. Ces résultats sont importants car il est rare de trouver un effet significatif d'une manipulation climatique sur des EEA (Allison et Treseder, 2008 ; Henry, 2013 ; Jing et al., 2013 ; Steinweg et al., 2013). De telles différences peuvent provenir de la méthode utilisée pour simuler un réchauffement climatique. A notre connaissance, notre étude est l'une des premières à réaliser des mesures d'activités enzymatiques sur des sols transplantés et sur un nombre aussi important d'enzymes. Nos résultats sont confortés par une étude de Gavazov et al. (2013) sur les même

lysimètres montrant une diminution de la décomposition de litière de hêtre le long du gradient altitudinal de transplantation (suivi de deux ans et demi) ainsi qu'une diminution de la respiration du sol mesurée à l'ors de la saison hivernale et estivale.

Les effets engendrés par la manipulation climatique sur les EEA sont accrus en été. Ce résultat suggère que les conditions sèches en été ont un impact d'autant plus important sur les mésocosmes de sol transplantés qui subissent une sécheresse plus forte. Le fort effet de la manipulation climatique sur l'abondance des communautés microbiennes, accentué en été corrobore l'hypothèse d'un effet seuil d'humidité du sol en été pour le développement et l'activité des microorganismes, comme décrit par Mills et al. (2014) sur la même expérimentation, avec un seuil de $0.3 \text{ m}^{-3}/\text{m}^{-3}$ en dessous duquel la sensibilité de l'activité de respiration des microorganismes à la température n'est plus observée. Cependant malgré des conditions potentiellement plus favorables en hiver et au printemps, l'abondance des communautés microbiennes au sein des mésocosmes transplantés dans les sites de Saint George (1010 m) et de l'arboretum d'Aubonne (570 m) est toujours inférieure à celle du site contrôle (Les Amburnex). Le fort stress expérimenté par les microorganismes en été pourrait se répercuter sur l'ensemble de l'année même si cette hypothèse paraît peu probable au regard de la vitesse importante de croissance des populations microbiennes. Une diminution de la biomasse microbienne est ainsi souvent observée suite à une expérimentation climatique (Rinnan et al., 2007 ; Vanhala et al., 2011). Ces éléments posent la question de la résilience des communautés microbiennes à des événements climatiques suite à ces quatre années d'expérimentation, que nous n'avons pas directement abordée dans ce travail. Des mesures d'activités enzymatiques à différentes températures, ou après une période d'incubation dans différentes conditions d'humidité du sol auraient permis d'estimer la résilience de l'activité enzymatique de décomposition à une augmentation de température ou à une sécheresse respectivement, en fonction des différents scénarios de changement climatique. Toutefois, des mesures de l'activité de respiration des microorganismes à différentes températures ont déjà montré la forte résilience des communautés microbiennes à une augmentation de température (Mills et al., 2014). La résilience de l'activité des communautés microbiennes de ces sols de prairies subalpines pourrait être due au fait que le site contrôle subit des courts épisodes de stress hydrique en été pouvant assurer la résilience des microorganismes à de plus grandes sécheresses et vagues de chaleur comme le suggère Bérard et al. (2012).

La tendance observée sur la structure des communautés microbiennes qui ne montrent pas de différences sous l'effet de la manipulation climatique tend à montrer que la structure

dépend plus de grandes variabilités de températures (différence été/hiver) plutôt que de l'humidité. Les différences de températures engendrées par la manipulation climatique étant manifestement trop faibles pour modifier la structure des communautés microbiennes comparées à la différence été/hiver. Ce résultat suggère à nouveau une forte capacité des communautés microbiennes alpines à s'adapter à des changements des conditions climatiques (Zinger, 2009). Le fait d'observer une diminution significative des EEA sous l'effet de la manipulation climatique quelle que soit la saison indique que les EEA ne sont pas uniquement régulées par des différences d'humidité du sol car notre étude ne montre pas de différence d'humidité des sols entre les sites de transplantation en hiver et à l'automne. Les différences de températures pourraient alors expliquer cet effet mais en hiver sous le manteau neigeux aucune différence de température n'est observée entre sites de transplantation. Ces observations suggèrent que d'autres facteurs interviennent dans le contrôle des EEA. Il peut s'agir notamment de la disponibilité du substrat organique (quantité et chimie) qui définissent la ressource potentiellement accessible aux microorganismes. Ainsi, il apparaît comme primordial d'étudier la dynamique de la ressource énergétique des microorganismes (MOS) pour comprendre les effets directs et indirects des changements des conditions climatiques sur l'activité microbienne de décomposition.

Nos résultats montrant une diminution de la concentration en COS sous l'effet de la manipulation climatique sont en contradiction avec nos mesures d'activités enzymatiques. En effet malgré une activité de décomposition microbienne plus faible, la teneur en COS diminue. Pour expliquer de tels résultats il faut se pencher sur les entrées et sorties de C organique dans le système étudié. Gavazov (2013) a reporté une forte augmentation de la concentration en carbone organique dissout (DOC) sous l'effet de la manipulation climatique (8, 13, 18 mg.C L⁻¹ pour les sites 1350 m (Les Amburnex), 1010 m (Saint George) et 570 m (arboretum d'Aubonne), respectivement ; valeurs moyennées de Février 2010 à Janvier 2012). Concernant les entrées de MO au sol, une diminution de la biomasse végétale est observée sur le site le plus bas en été 2011 mais une augmentation de celle-ci est reportée lors de l'été 2013. Ainsi, il est difficile de tenter d'expliquer cette différence de teneur en C du sol et des études complémentaires de la dynamique des pools de la MOS ainsi que des stocks de la MOS sont nécessaires pour tenter de comprendre cet effet.

3. Limites de l'étude et perspectives

Les méthodes mises en œuvre lors de cette étude afin de comprendre l'effet des conditions climatiques sur la dynamique de la décomposition microbienne de la MOS ont permis de tirer certaines conclusions intéressantes mais elles présentent également des limites.

La première limite peut être attribuée aux méthodes de mesure des activités enzymatiques du sol. En effet l'activité enzymatique est issue d'une mesure réalisée en laboratoire dans des conditions optimales. Ces conditions optimales sont une température de 27°C et une concentration en substrat non limitante. Ces mesures permettent d'estimer l'abondance de l'enzyme étudiée dans le sol (pool d'enzyme du sol) ou son activité potentielle. Cependant l'activité enzymatique réelle ayant lieu *in situ* peut différer grandement des mesures au laboratoire. En effet, bien que nos résultats suggèrent une diminution de l'abondance des enzymes du sol sous l'effet de la manipulation climatique, les températures plus élevées sur les sites transplantés peuvent augmenter la cinétique *in situ* de décomposition. Ainsi, malgré une quantité d'enzymes moins importante l'activité enzymatique globale pourrait être la même ou supérieure au site contrôle (meilleure efficacité enzymatique). Des méthodes permettent de s'affranchir de ce biais méthodologique lié à la température. En effet réaliser des mesures d'activité enzymatique à plusieurs températures en laboratoire permet de calculer la sensibilité de l'enzyme étudiée à la température (Q10). En connaissant la température annuelle et la sensibilité de l'activité enzymatique, il est possible de calculer l'activité *in situ* par le biais d'un modèle simple (Wallenstein et al., 2009). Cependant, l'activité enzymatique ne dépend pas seulement de la température mais également de nombreux facteurs comme la diffusion des enzymes à travers la solution du sol (rôle de l'humidité du sol). L'activité enzymatique potentielle reste un indicateur largement utilisé et les comparaisons entre études en sont facilitées. Les techniques de protéomique et de transcriptomique couplées aux mesures d'activités enzymatiques potentielles augurent de nombreux progrès de notre compréhension des liens entre l'activité des communautés microbiennes du sol, leurs ressources et les conditions climatiques (Nannipieri et al., 2012).

Lors de notre étude, il a été montré que la phénoloxydase, enzyme oxydative était plus affectée que les hydrolases. Ce résultat est à prendre avec précaution car les méthodes utilisées ne sont pas les mêmes. En effet, la mesure de l'activité de la phénoloxydase est plus difficile à réaliser. De nombreux protocoles ont été développés mais pour l'instant seules des mesures par absorbances (moins sensibles) existent. Ainsi, la sensibilité accrue de la phénoloxydase à la manipulation climatique comparée aux hydrolases peut être le reflet d'une

différence de sensibilité méthodologique. Là encore le développement de nouvelles méthodes moléculaires permettra de mieux répondre à cette question dans le futur.

Enfin, la troisième limite de cette étude peut être attribuée à la caractérisation de la structure des communautés microbiennes par extraction des PLFA. En effet bien qu'il ait été montré que l'étude des PLFA est une méthode pertinente pour l'étude des changements des communautés microbiennes, la résolution de cette méthode reste faible. Ramsey et al. (2006) ont cependant montré que l'étude des PLFA maximisait l'effet d'un traitement expérimental comparé aux méthodes basées sur l'extraction d'ADN. Les études portant sur l'ARN permettent de cumuler les avantages des deux méthodes citées auparavant. Toutefois l'étude de l'ARN reste bien plus difficile à mettre en œuvre et plus chère.

4. Conclusion

Notre étude portant sur les effets des conditions climatiques sur la décomposition microbiennes en prairie subalpine de moyenne montagne calcaire souligne le rôle primordial du climat sur le fonctionnement de ce système. La dynamique saisonnière très prononcée souligne la vulnérabilité de cet écosystème aux changements de la durée des saisons (manteau neigeux notamment). Il semblerait que les conditions climatiques modifient les activités enzymatiques de multiples manières par des effets directs et indirects. Etudier la dynamique de la ressource énergétique des microorganismes du sol en parallèle paraît essentiel pour mieux discriminer ces effets directs et indirects. De plus il apparaît que les communautés microbiennes sont capables de s'adapter très rapidement à de nouvelles conditions climatiques drastiquement différentes (été/hiver) et qu'en comparaison la manipulation climatique ne perturbe pas leurs structures. Enfin, la diminution des teneurs en C du sol sous l'effet de la manipulation après quatre années d'expérimentation est encore difficile à interpréter et de nouvelles investigations permettront de mieux comprendre les raisons d'une telle diminution.

Chapitre 2 : Dynamique des pools de C organique du sol et climat

I. Introduction

Le deuxième chapitre de cette thèse vise à améliorer notre compréhension des effets du climat sur la dynamique de la MOS, ressource énergétique des communautés microbiennes (Fig.36.). Il se divise en deux parties.

La première partie de ce chapitre de thèse présente différentes méthodes d'études des MOS, certaines étant mises en œuvre dans cette thèse. Nous présentons ainsi plusieurs méthodologies de fractionnement de la MOS permettant d'isoler des pools de C organique du sol au temps de résidence contrasté sous l'effet de mécanismes de protection spécifiques, et donc susceptibles d'être plus ou moins sensibles aux modifications du climat. Ensuite, la principale méthode spectroscopique choisie dans ce travail de thèse pour l'étude de la chimie des pools de C organique du sol isolés est présentée.

La deuxième partie de ce chapitre de thèse est un article scientifique à soumettre prochainement dans le journal « Biogeochemistry ». Cet article utilise l'expérimentation de transplantation altitudinale de sol présentée dans l'introduction générale de cette thèse afin d'étudier l'impact des modifications climatiques (manipulation climatique et saisonnalité été/hiver) sur l'abondance et la chimie de plusieurs pools de MOS en prairie subalpine. Comme il est montré dans l'introduction générale de cette thèse, les sols de montagne stockent de grandes quantités de C organique (Martin et al., 2011 ; Sjögersten et al., 2011). De plus dans ces sols des régions froides, une grande partie des stocks de C des sols se trouve sous la forme de matière organique particulaire (POM) en raison de contraintes climatiques fortes qui limitent la décomposition de la MOS (Leifeld et al., 2009b ; Saenger et al., 2015). Cette fraction POM, non stabilisée par interaction avec le compartiment minéral est donc susceptible d'être fortement vulnérable aux changements climatiques en cours et attendus dans les régions de montagne alpine et jurassienne.

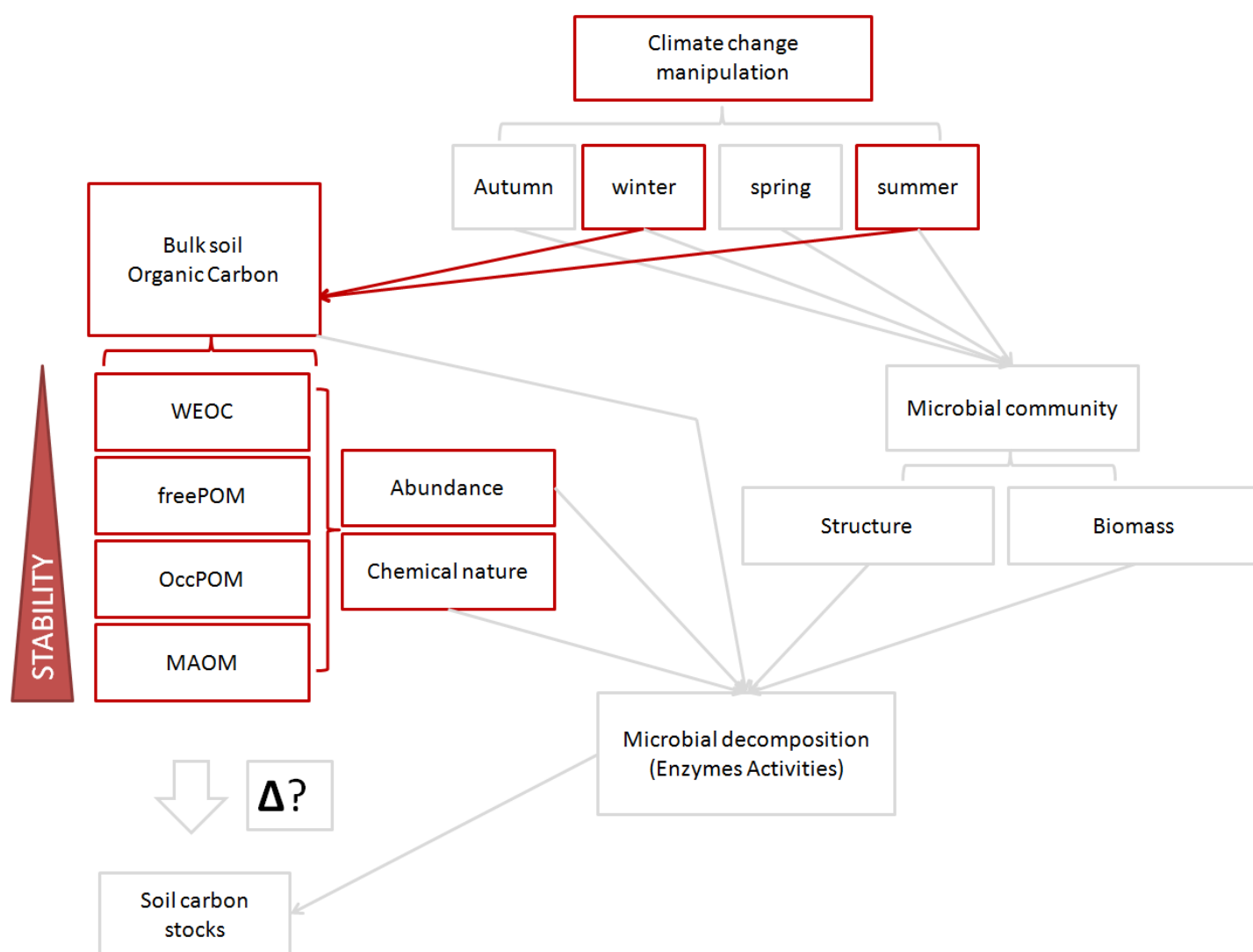


Figure.36 : Schéma de la démarche mise en place durant cette thèse pour l'étude des facteurs contrôlant la dynamique de décomposition des MO du sol. En rouge sont indiqués les éléments et les interactions étudiés dans le chapitre 2. WEOC : carbone organique dissous dans l'eau, représentant la fraction de la MO la plus labile. FreePOM : Matière organique particulaire libre signifiant qu'elle n'est pas protégée de la décomposition par les éléments du sol. OccPOM : Matière organique particulaire protégée au sein des agrégats de sol. Cette fraction est protégée de la décomposition microbienne par protection physique à l'intérieur des agrégats de sol. MAOM : Matière organique associée au compartiment minéral. Cette fraction représente la fraction la plus stable car fortement protégée de la décomposition microbienne grâce aux interactions avec le compartiment minéral.

II. Méthodes d'études des MOS

1. Pools de matières organiques du sol

1.1. Définition

Plusieurs décennies de recherches en biogéochimie du sol ont montré que considérer la MOS comme un seul pool de C organique avec un temps de résidence dans le sol unique ne permet pas d'en expliquer la dynamique décennale ou centennale observée (Amundson, 2001 ; Trumbore, 2009). Une telle hypothèse ne permet notamment pas de rendre compte des temps de résidence très contrastés mesurés pour différents composés organiques dans les sols par quantification de leur teneur en ^{14}C (radiocarbone). Il existe ainsi un paradigme en biogéochimie du sol divisant la MOS en trois pools de C organique conceptuels qui diffèrent par leur temps de résidence dans les sols : un pool de C organique actif, un pool intermédiaire et un pool stable ou passif avec des temps de résidence respectifs (et approximatifs) de l'ordre de l'année, de la décennie et du siècle (Amundson, 2001). Cette répartition des stocks de C organiques des sols en trois pools cinétiques contrastés permet aux modélisateurs de simuler correctement la dynamique globale (à l'échelle des biomes) du C organique des sols sur des pas de temps allant de l'année au siècle (Parton et al., 1987 ; Amundson, 2001).

Toutefois, isoler physiquement des pools de C organique ayant une cinétique homogène dans les sols est encore aujourd'hui un verrou technique majeur à la quantification *in situ* de la dynamique des stocks de C organique des sols (Trumbore, 2009). Ce verrou constitue un obstacle important à la quantification du service écosystémique de régulation du climat par les sols, notamment à l'échelle spatiale concernant directement l'utilisation des terres et leur gestion : celle du paysage.

Il s'agit d'obtenir des fractions opérationnelles de MOS obtenues suite à un fractionnement au laboratoire, qui pourraient refléter des pools de C organique fonctionnels (i.e. caractérisés par un temps de résidence homogène au sein de la fraction). Une fois ces pools de C organique fonctionnels identifiés et quantifiés, ils pourraient être utilisés pour paramétrer et valider à l'échelle du paysage des modèles mécanistes de dynamique du C dans les sols.

Pour y parvenir, une voie importante de recherche concerne le développement de techniques permettant d'isoler une fraction de C organique stabilisée par un mécanisme spécifique de stabilisation (cf. section II.3.1 de l'introduction générale de cette thèse). Il est

impressionnant de constater le grand nombre de protocoles de fractionnement de la MOS développés par la communauté scientifique au cours des dernières décennies (Feller et Chenu, 2012 ; Von Lützow et al., 2006 ; Saenger, 2013). Il existe ainsi des méthodes de fractionnement de la MOS dites « physiques » d'autres dites « chimiques » et des méthodes qui combinent ces deux approches. Depuis environ une décennie, des méthodes de fractionnement thermique des MOS sont également en cours de développement (Plante et al., 2009 ; Saenger, 2013 ; Saenger et al., 2013 ; 2015). Chaque protocole présente des avantages et des inconvénients, qu'il convient de connaître afin d'en interpréter correctement les résultats.

2.1. Fractionnement physique de la MOS

Le fractionnement physique de la MOS fait l'hypothèse que l'association des particules organiques et minérales et leurs arrangements spatiaux jouent un rôle clé dans la dynamique de la décomposition de la MOS. Cette hypothèse est reliée à la notion de biodisponibilité de la ressource qui est indispensable pour que la MOS puisse être dégradée par les microorganismes décomposeurs du sol. Plusieurs mécanismes de stabilisation peuvent ainsi être étudiés suite au fractionnement physique de la MOS. Il s'agit des mécanismes de (i) préservation sélective de certaines molécules organiques (récalcitrance), (ii) de protection de la MO contenue au sein des micro (< 250 μm) et macro (> 250 μm) agrégats de sol (processus d'agrégation du sol), et d'association avec le compartiment minéral du sol par adsorption/complexation. Le fractionnement physique s'obtient suite à une séparation des éléments du sol selon leur taille (granulométrie) et/ou par densité. Par ailleurs, certaines techniques de fractionnement physique permettent également d'isoler un pool de MO considéré comme directement assimilable par les microorganismes du sol : les matières organiques extractibles à l'eau (cf. plus bas) (Guigue et al., 2014).

Afin d'obtenir la fraction de C organique libre dans le sol, non protégée par un mécanisme autre qu'une éventuelle préservation sélective de certains composés organiques (pool labile de MOS), l'approche la plus couramment développée consiste à séparer cette matière organique particulaire (MOP libre ou « freePOM » en anglais) par densité. Pour ce faire, une solution de polytungstate de sodium (SPT ; de forte densité) est communément utilisée. La fraction freePOM qui flotte est récupérée, elle correspond en majorité à des débris végétaux plus ou moins fragmentés libres dans le sol.

Afin d'extraire la MO protégée au sein des agrégats du sol (pool intermédiaire de MOS), il est nécessaire de casser leur structure. Différentes techniques permettent de détruire les agrégats du sol en utilisant par exemple des méthodes d'agitation avec des billes de verre ou d'agate. Cependant, ces méthodes d'agitation ne sont pas recommandées pour disperser correctement les agrégats du sol et sont peu reproductibles (Von Lützow et al., 2006). La méthode la plus utilisée et la plus efficace est la dispersion des agrégats par sonification. Seuls les agrégats inférieurs à $2\mu\text{m}$ survivent à un traitement approprié aux ultrasons (Chenu et Plante, 2006). De plus, l'utilisation des ultrasons pour rompre la structure des agrégats permet de calculer la puissance (exprimée en joules) utilisée pour effectuer l'opération. Cela permet une bonne reproductibilité des protocoles et de pouvoir comparer les résultats entre différentes études. Pour ce faire, Schmidt et al. (1999) ont mis en évidence la nécessité de calibrer correctement et régulièrement le sonificateur avant utilisation. En effet, il a été montré que l'usage de la sonde, le modèle et la marque de l'appareil utilisé modifient l'énergie totale transmise à l'échantillon. Pour une même énergie demandée (e.g. : 22 j/ml), l'énergie réellement transmise peut varier fortement et ce, même pour un modèle de sonificateur identique. Pour calibrer l'appareil un protocole a été mis en place et consiste à calculer le rendement de l'appareil utilisé par des mesures de températures (Schmidt et al. 1999). Enfin, l'utilisation d'une énergie d'ultrasons définie permet de disperser les agrégats selon leur taille. Une énergie de 22 j/ml permet de détruire les macro-agrégats ($> 250\mu\text{m}$) de sol alors qu'une énergie de 450 j/ml ($< 250\mu\text{m}$) semble être un prérequis pour détruire les micro-agrégats de sol (Leifeld et al., 2005). Il a été montré que le temps de résidence de la MOS contenue dans les macro-agrégats de sol était en moyenne de 15 à 50 ans alors que celui de la MOS protégée au sein des micro-agrégats de sol était de 100 à 300 ans (Six et al., 2002 ; Yamashita et al., 2006). Comme pour la fraction freePOM, la MOS contenue dans les agrégats (occPOM en anglais, pour occluded POM) est finalement extraite à l'aide d'une solution de SPT de forte densité. La fraction qui flotte après sonification est récupérée. Elle correspond en majorité à des débris végétaux fragmentés mais relativement plus décomposés que la freePOM (Fig.37) (Poirier et al., 2005 ; Von Lützow et al., 2007).

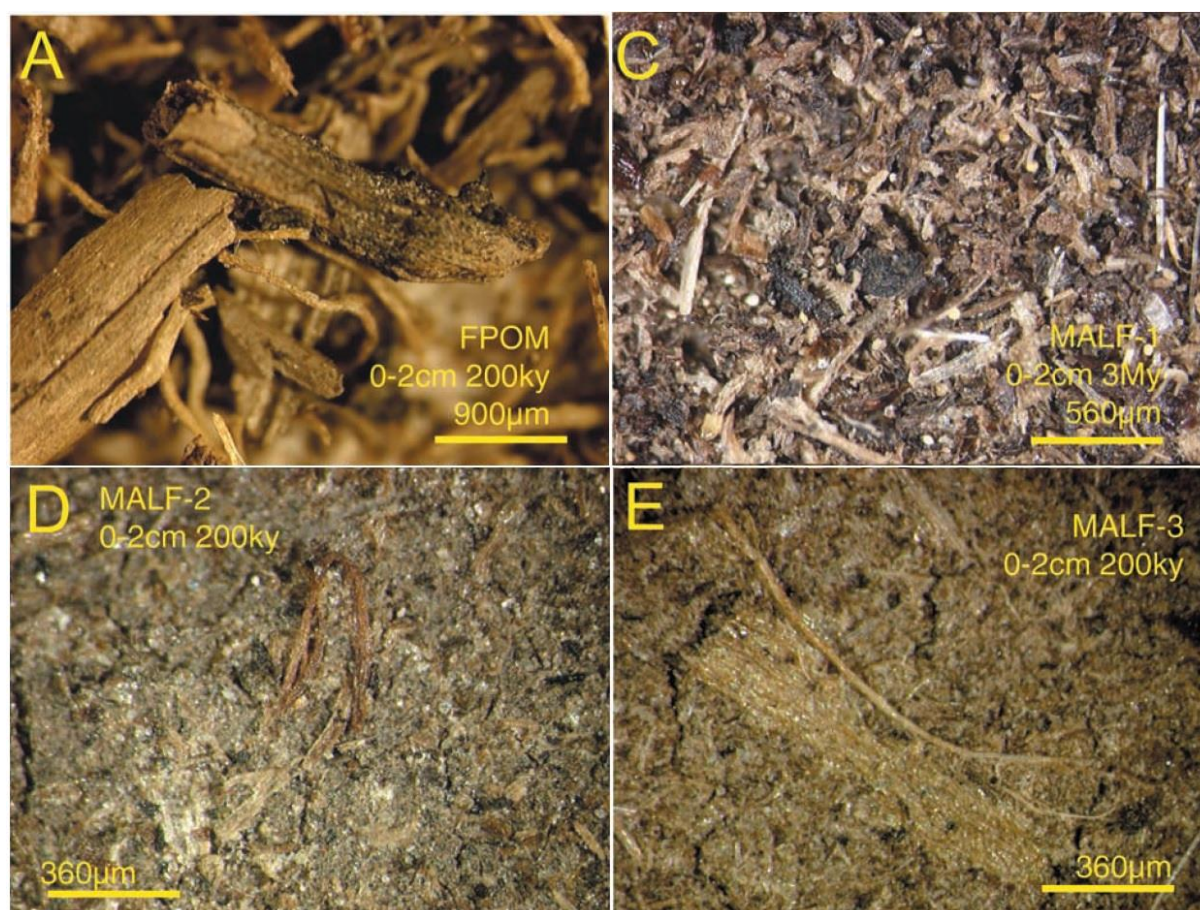


Figure.37 : Images de différentes fractions isolées par fractionnement granulo-densimétrique. A) POM libre de densité inférieure à 1.6 et de taille comprise entre 0 et 2 cm, C, D et E MO associée à la phase minérale ayant une densité respectivement comprise entre 1.6 et 1.85 (C), comprise entre 1.85 et 2.22 (D) et supérieure à 2.22 (E) (Baisden et al., 2002).

Enfin, la fraction de C organique associée par adsorption/complexation avec le compartiment minéral du sol (pool stable de MOS) est également obtenue par densité. Une solution de polytungstate de sodium de forte densité est à nouveau utilisée. Après l'étape de sonification décrite précédemment, la fraction lourde correspond à la MO stabilisée par association avec les minéraux du sol considérée comme la fraction stable, inerte ou passive. En anglais, cette fraction de MOS stable est souvent notée « MAOM » pour mineral associated organic matter. La séparation de la fraction MAOM peut être complétée par un fractionnement granulométrique pour séparer la fraction MAOM liée aux particules sableuses ($> 50 \mu\text{m}$), de celle liée aux particules limoneuses ($2 \mu\text{m} < \text{limons} < 50 \mu\text{m}$) ou argileuses ($<$

2 μm). La fraction organique liée aux argiles est généralement considérée comme la fraction plus stabilisée (Von Lützow et al., 2006, Sollins et al., 1996 ; 2007). Il est à noter que certains auteurs séparent uniquement les MO par granulométrie (Von Lützow et al., 2007). De plus la séparation densimétrique dépend fortement de la densité de la solution choisie. Ainsi, une norme française de fractionnement des MOS utilise un fractionnement granulométriques isolant des matières organiques particulaires grossières (de taille $> 250 \mu\text{m}$) et fines (de taille comprise entre 50 et $250 \mu\text{m}$) flottant dans l'eau (NF X31-516, 2007; Saenger et al., 2015).

L'utilisation d'un fractionnement physique permet d'obtenir de nombreuses fractions différentes en jouant sur des filtres granulométrique, densimétriques et par l'utilisation ou non d'ultrasons. Il est ainsi parfois délicat de comparer les résultats obtenus d'une publication à une autre car il est rare que les paramètres de la méthode de fractionnement soient identiques.

Dans cette thèse, le protocole de fractionnement qui a été choisi est un fractionnement combinant une approche granulométrique et densimétrique (Fig.38). Les fractions obtenues sont ainsi censées représenter des pools de C avec des temps de résidence contrastés dans le sol.

La première fraction obtenue correspond aux matières organiques dissoutes ou particulaires d'une taille inférieure à $0.45 \mu\text{m}$ (en anglais, elle est appelée WEOC ou DOC pour water extractible organic C ou dissolved organic C). Cette fraction est communément définie et étudiée dans la littérature même si les protocoles d'extraction du C dissout peuvent être différents (Guigue et al., 2014). Cette fraction est composée d'un mélange complexe de structures chimiques à dominante aliphatique et aromatique, sur lesquelles sont substitués divers groupements fonctionnels (Célerier, 2008). La MO dissoute se retrouve directement disponible pour la décomposition microbienne étant donné qu'elle fait partie intégrante de la solution du sol. Il a été montré que cette fraction présentait des taux de renouvellement extrêmement élevés (temps de résidence dans le sol très faible). Malgré la faible proportion de C qu'elle représente à l'échelle de la MO totale du sol, sa forte réactivité et le taux de renouvellement important de certains de ses composés font de cette fraction un acteur majeur de la dynamique du C du sol et un important déterminant de la structure des réseaux trophiques du sol.

Ensuite dans l'ordre de la fraction de MOS la plus labile (temps de résidence faible dans le sol) à la plus stabilisée (temps de résidence important dans le sol) vient la fraction appelée freePOM. Comme il est montré plus haut, il s'agit d'une fraction obtenue après un

fractionnement densimétrique (MO légère) et qui correspond essentiellement à des débris végétaux plus ou moins fragmentés en cours de décomposition. Cette fraction est appelée freePOM car la MO n'est pas protégée au sein d'agrégats et pas ou très peu liée au compartiment minéral. Son temps de résidence moyen dans le sol est de l'ordre de 2-20 années en milieu de plaine et de 80 années en milieu de montagne (Budge et al., 2011a; Leifeld et al., 2009a et 2009b ; Meyer et al., 2012a).

Une troisième fraction de MOS est la fraction occPOM. Comme il est montré plus haut, elle correspond à la matière organique particulaire protégée au sein des agrégats de sols (détruits par sonification et flottant dans une solution dense de SPT). Une énergie de 22j/ml a été utilisée pour détruire les macro-agrégats de sol (Cambardella et Elliott, 1994).

Les fractions freePOM et occPOM sont très communes dans l'étude de la dynamique du C du sol mais sont généralement définies comme ayant une taille supérieure à 53µm ou 63µm selon les publications. Cette séparation arbitraire est faite car il devient très difficile de filtrer une solution possédant des particules inférieures à 50µm. Il en résulte que la fraction organique particulaire comprise entre 0.45µm et 50/53/63 µm est dans la plupart des cas non étudiée. Ainsi, il a été choisi dans cette thèse de filtrer les échantillons de POM (fractions freePOM et occPOM) à 0.45 µm, étant donné le nombre raisonnable d'échantillons (60). Ainsi les échantillons de POM obtenus correspondent à des débris organiques d'une taille comprise entre 0.45µm et 2mm. Il est à noter que ce choix méthodologique est très intéressant d'un point de vue théorique mais est difficilement réalisable en laboratoire étant donné le temps nécessaire à la filtration (réalisée à l'aide d'une pompe à vide) de chaque échantillon.

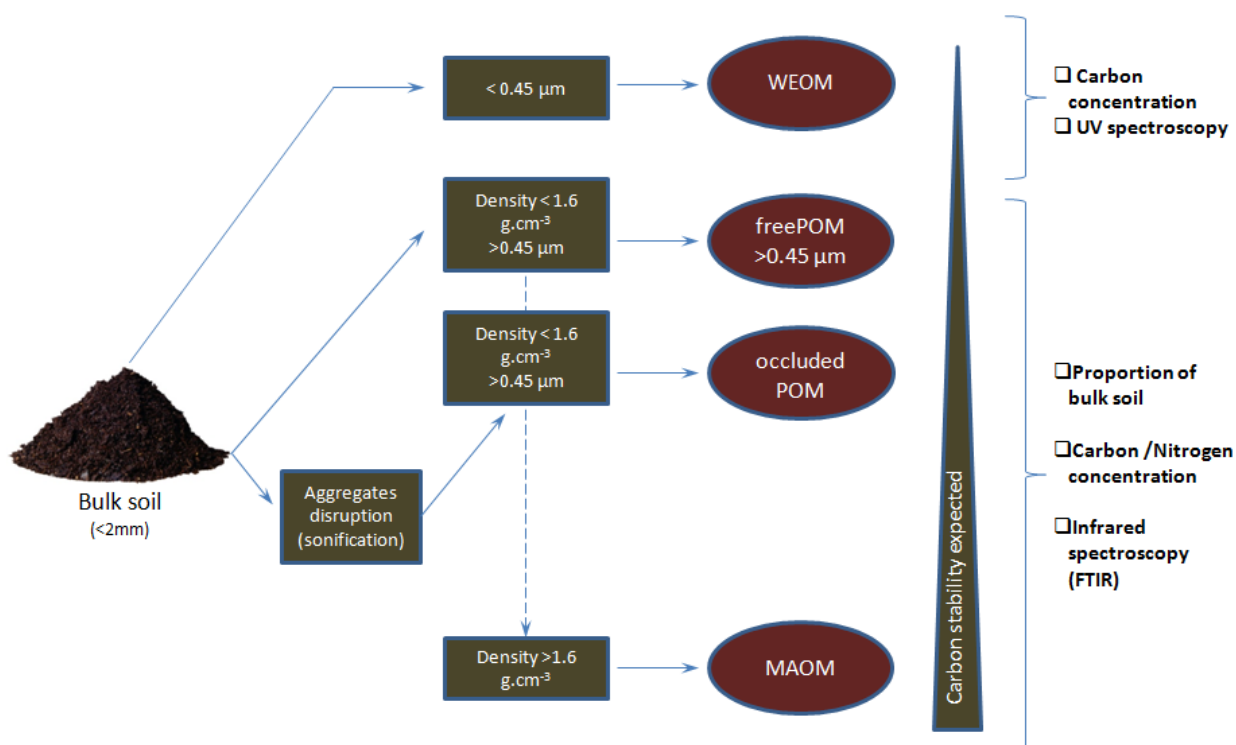


Figure. 38 : Protocole de fractionnement des MOS réalisé dans cette thèse

Enfin, la fraction la plus stable (MAOM) regroupe la MO complexée aux minéraux (ainsi que la MO protégée au sein d'agrégats de sol d'une taille $< 250 \mu\text{m}$, si on fait l'hypothèse que cette classe de taille d'agrégats n'est pas détruite par le traitement de sonification). Le protocole mis en place durant cette thèse permet une séparation de pools de C aux propriétés chimiques (concentration en C, ratio C/N, proportion du C total) différentes comme en témoigne la Fig.39.

1.1. Fractionnement chimique de la MOS et combinaison de fractionnements physico-chimiques

De nombreuses méthodes chimiques de fractionnement de la MOS ont été développées. L'objectif principal de ces méthodes reste le même que celui des méthodes de fractionnement physique, il s'agit d'isoler des fractions de MOS ayant des temps de résidence contrastés dans les sols. Ces méthodes se proposent donc d'extraire via des moyens chimiques différentes fractions de MOS: (i) vivantes (via la lyse chimique des cellules des microorganismes du sol), (ii) labiles ou facilement décomposables par les microorganismes du sol (extractibles par

des solvants peu agressifs pour les MOS comme l'eau) (iii) stables (extraites par des attaques de solvants acides ou oxydants). Les méthodes de fractionnement chimiques des MOS permettent parfois d'éliminer la phase minérale du sol, ce qui facilite l'étude de la chimie de la MO associée aux minéraux.

Une des méthodes de fractionnement chimique les plus utilisées est l'extraction du C microbien après fumigation au chloroforme (Vance et al., 1987). Cette méthode permet d'extraire la biomasse microbienne (pool de C_{org} très dynamique) qui représente la fraction vivante du C organique du sol. Une méthode d'extraction chimique d'un autre pool de MOS considéré comme labile concerne l'extraction de la fraction de MOS hydrolysable à l'eau chaude (Schulz, 2002 ; Pengerud et al., 2013). Toutefois, des études ont montré que ce pool de MOS est relativement peu homogène en termes de temps de résidence dans le sol (Von Lützow et al., 2007).

Historiquement, le fractionnement chimique des MOS était très utilisé pour l'extraction des acides humiques et fulviques (à l'aide de solutions NaOH et $Na_4P_2O_7$), longtemps considérés comme les produits finaux de la décomposition des MOS (Gobat et al., 2010). Cependant il a été récemment démontré que ces fractions de MOS sont principalement opérationnelles (Kelleher et Simpson, 2006), le mode d'extraction affectant autant la MOS non complexée aux minéraux que celle qui l'est. Ainsi, il a été montré que les temps de résidence reportés dans la littérature pour ces fractions humiques sont très variables (von luitzow 2007).

Afin d'imiter l'action de décomposition des enzymes extracellulaires du sol, des oxydations ou des hydrolyses chimiques sont utilisées. Concernant l'oxydation, une des méthodes utilisée est l'oxydation au permanganate de potassium qui est supposée imiter l'activité oxydative enzymatique ou encore l'eau oxygénée (H_2O_2) qui dégrade le pool de C censé représenter le C disponible pour les enzymes extracellulaires du sol. Les hydrolyses acides sont largement utilisées pour supprimer la fraction labile des MOS et par conséquent estimer la fraction récalcitrante ou stable des MOS.

Une des utilisations très intéressantes de fractionnement chimique est la possibilité de dissoudre la phase minérale d'un échantillon. La présence de minéraux dans certaines fractions de MOS (les différentes fractions MAOM) pose en effet de gros problèmes lorsque l'on souhaite caractériser la chimie des MOS. De nombreux protocoles sont ainsi appliqués pour permettre la dissolution de la phase minérale d'un mélange organo-minéral. Dans la grande majorité des cas, cette dissolution se fait grâce à l'acide fluorhydrique (HF) plus ou

moins concentré et en plusieurs étapes. Outre la nécessité de l'utilisation de tels protocoles pour l'étude de la chimie des fractions de type MAOM, ces méthodes permettent également de quantifier les fractions de MOS opérationnelles résistantes à de telles attaques chimiques.

L'ensemble de ces méthodes chimiques peut être combiné au protocole de fractionnement physique dans le but d'isoler de manière la plus fine possible des pools de MOS fonctionnels, homogènes et stabilisés par un mécanisme spécifique de stabilisation. Cependant, même avec la combinaison de différentes méthodes de fractionnement, les fractions extraites restent assez hétérogènes ne représentant pas un mécanisme de stabilisation unique. Les fractions de MOS les plus représentatives d'un pool homogène de C (en terme de temps de résidence et/ou de chimie organique) sont la fraction microbienne et les fractions légères (POM). La plus grande difficulté réside dans l'extraction et la quantification de la fraction de MOS stable en raison des nombreux mécanismes qui sont à l'origine de sa stabilisation. Une difficulté majeure réside dans la calibration des méthodes de fractionnement en l'absence d'échantillons de sol dont la proportion des différents pools de C seraient connus. Des développements en cours utilisant les sols de jachères nue de longue durée, dont le pool de C stable est connu (Barré et al., 2010) montrent que les méthodes de fractionnement thermique des MOS comme la pyrolyse Rock-Eval semblent capable de prédire le pool de C organique stable, avec un temps de résidence supérieur ou égal au siècle (Barré et al., 2015, communication personnelle).

2. Méthodologie pour étudier la chimie de la MOS

De nombreuses méthodes spectroscopiques permettent aujourd'hui d'étudier la chimie de la MOS. Il s'agit principalement de méthodes spectroscopiques telles que la spectroscopie infrarouge (IR), spectrophotométrie ultraviolet-visible, spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN), ou encore la spectroscopie de masse. Ces méthodes sont basées sur l'interaction entre un photon et une molécule ou atome. Les différentes techniques permettent d'obtenir des informations chimiques différentes selon l'énergie d'excitation apportée par le rayonnement électromagnétique. Avec une énergie intense (rayons X) les électrons de la couche interne d'un atome sont excités. Dans le domaine infrarouge, les liaisons moléculaires entre atomes sont excitées (élongation, déformation). Ces méthodes non destructives permettent d'avoir accès à la nature chimique de l'échantillon. Dans ce chapitre sont présentées les méthodes utilisées au cours de cette thèse (RMN ^{13}C , IR).

2.1. Spectroscopie Infrarouge

La spectroscopie infrarouge est un outil largement utilisé dans beaucoup de disciplines et son potentiel et reconnu par la science du sol depuis quelques décennies (Bowers et Hanks, 1965 ; Stoner et Baumgardner, 1981). D'un point de vue fonctionnel, la spectroscopie infrarouge consiste à exciter les liaisons moléculaires (organiques et minérales) d'un échantillon en le soumettant à un rayonnement IR (de 12 500 à 400 cm^{-1}). En fonction de la plage spectrale utilisée, il s'agit soit du proche infrarouge (SPIR ; de 800 à 2500 nm soit de 12500 à 4000 cm^{-1}) soit du moyen infrarouge (SMIR ; de 2500 à 25000 nm soit de 4000 à 400 cm^{-1}). Pour l'étude fine de la chimie de la MOS, la SMIR apparaît plus appropriée en raison de la présence des bandes d'absorption fondamentales pour la plupart des composés organiques dans ce domaine de longueurs d'ondes. La SMIR est la méthode infrarouge utilisée dans cette thèse. Les mesures spectrales sont faites en réflexion totale atténuée (ATR). Dans ce mode de mesure spectrale, le faisceau optique subit plusieurs réflexions à l'interface entre l'échantillon et un cristal en diamant transparent au signal IR. L'énergie transmise à l'échantillon étudié par le rayonnement IR entraîne la vibration d'une liaison moléculaire lorsque celle-ci correspond exactement à l'énergie nécessaire à sa mise en vibration. En entrant dans le mode vibratoire (étirement, torsion, bascule) une partie de l'énergie IR est absorbée. C'est la quantité de signal absorbée par les vibrations des liaisons organiques (C-H, O-H, N-H, C=C, C=O entre autres) qui permettront d'estimer la proportion de chaque groupe fonctionnel organique au sein de l'échantillon (Tableau 4).

La spectroscopie IR est un outil qui permet de traiter rapidement de nombreux échantillons (plus de 100 échantillons par jour) et s'avère peu coûteux et hautement reproductible. Il suffit de quelques secondes pour mesurer l'absorbance d'un échantillon en raison de la mesure simultanée de toutes les fréquences dans le cas d'appareils utilisant la technologie de la transformée de Fourier. Cependant, des précautions doivent être prises pour ne pas perturber le signal. En effet la spectroscopie IR s'avère très sensible à la granulométrie de l'échantillon et à sa teneur en eau. Ainsi, il est nécessaire de broyer finement les échantillons (<250 μm) et de les sécher correctement (18h à 50°C) avant une mesure, afin de standardiser leur granulométrie et leur teneur en eau.

Dans le cas d'échantillons de sol organo-minéraux, il est important de noter que la spectroscopie IR ne permettra d'étudier la chimie de la MOS que d'une manière très

perturbée. En effet, les minéraux du sol (argiles, oxy-hydroxydes de fer et d'aluminium, quartz, calcite, etc.) ont de très fortes absorptions dans le domaine moyen infrarouge (liaisons Si-O, Ca-O, Fe-OH, Al-OH, etc.). Le sol organo-minéral étant souvent composé de plus de 95% de minéraux, le signal moyen infrarouge récupéré reflète essentiellement la composition de la matière minérale de l'échantillon et non la composition chimique de la MOS. En effet, la majorité des bandes d'absorption liées aux molécules organiques se recoupent avec celles liées aux minéraux. Les spectres obtenus sont très complexes et un grand nombre de bandes d'absorption se superposent. Seule la zone 3000-2800 cm^{-1} est exempte d'absorptions minérales dans les sols organo-minéraux non carbonatés (Reeves, 2012). L'interprétation des spectres peut être alors très délicate, et il est ainsi souvent impossible de discriminer le signal organique du signal minéral pour une région spectrale donnée. Des techniques de soustraction spectrale sont parfois appliquées pour tenter de corriger ces biais de la SMIR dans les sols organo-minéraux. Par exemple, le spectre des cendres d'un échantillon peut être soustrait du spectre de sol total afin de retirer les absorptions liées aux minéraux. Toutefois, la soustraction spectrale corrige très mal les spectres, il est préférable de ne pas y recourir. De nombreux exemples de mauvaises utilisations de la SMIR pour étudier la chimie de la MOS dans des sols organo-minéraux peuvent ainsi être trouvés dans la littérature internationale récente (Calderón et al., 2011).

Longueur d'onde (cm ⁻¹)	Vibration	Groupe fonctionnel ou composés
3700-3620	Al-Al-OH (2 bandes)	Kaolinite, smectite
3400	O-H élongation	Groupe alcool lié et non-lié et eau
3180-3090	NH ₂ élongation (2 bandes)	Amines primaires
2920	C-H élongation	Molécules aliphatiques
2850	C-H élongation	Molécules aliphatiques
2590-2560	S-H élongation	Thiol
2520		Carbonate, dolomite
1820		Dolomite
1740-1720	C=O	Aldéhyde, cétone, acides carboxyliques, et esters
1640	C=O	Amide I, carboxylates
	C=C	Alcènes, aromatiques
1635	O-H déformation	Eau absorbée
1600	N-H dans le plan	Amines
1600-2590	C=C	Aromatiques
1570-1540	N-H dans le plan	Amides II
1515-1505	C=C	Squelette aromatique
1425	COO- élongation	Acides carboxyliques
	C-O élongation	Carbonates
1400		Nitrates
1384	N-O élongation	Nitrates
1320	C-N élongation	Amines aromatiques primaires et secondaires
1265-1240	C-O	Acides carboxyliques
	C-N	Amide III
1250-900	C-O-C, C-O	Polysaccharides
	C-O-P	Phosphodiester
1140-1080	S-O élongation	Sulfates inorganiques
1080-1030	C-O / Si-O élongation (Si-O-Si)	Polysaccharides / Quartz, Argiles
875	C-O déformation hors du plan	Silicates
850-750	NH ₂ déformation hors du plan	Carbonates
800-770		Amines primaires
750-700	N-H	Quartz
680-610	S-O déformation	Amines secondaires
		Sulfates inorganiques

Tableau.4 : Principales bandes d'absorption des groupes fonctionnels des composés du sol (Célerier, 2008)

III. Contribution scientifique

Article à soumettre dans le journal « Biogeosciences »

Title: « Soil organic carbon pools of subalpine mountain grasslands: seasonal patterns under a climate manipulation experiment».

Jérémy Puissant^{a,b}, Robert TE Mills^{c,d}, Pierre Barré^e, Bjorn JM Robroek^{c,d,f}, Konstantin Gavazov^{c,d}, Sebastien De Danieli^{a,b}, Yves Perrette^h, Thomas Spiegelberger^{a,b}, Alexandre Buttler^{c,d,g}, Jean-Jacques Brun^{a,b}, Lauric Cécillon^{a,b}

Soil organic carbon pools of subalpine mountain grasslands: seasonal patterns under a climate manipulation experiment

Jérémy Puissant^{a,b}, Robert TE Mills^{c,d}, Pierre Barré^e, Bjorn JM Robroek^{c,d,f}, Konstantin Gavazov^{c,d}, Sebastien De Danieli^{a,b}, Yves Perrette^h, Thomas Spiegelberger^{a,b}, Alexandre Buttler^{c,d,g}, Jean-Jacques Brun^{a,b}, Lauric Cécillon^{a,b}

^aIrstea, UR EMGR Ecosystèmes montagnards, 2 rue de la Papeterie-BP 76, F-38402 Saint Martin d'Hères, France

^bUniv. Grenoble Alpes, F-38402 Grenoble, France

^cEcole Polytechnique Fédérale de Lausanne EPFL, School of Architecture, Civil and Environmental Engineering ENAC, Laboratory of ecological systems ECOS, Station 2, 1015 Lausanne, Switzerland

^dSwiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research WSL, Site Lausanne, Station 2, 1015 Lausanne, Switzerland.

^eUMR 8538 Ecole Normale Supérieure 24 Rue Lhomond, 75231 Paris CEDEX 5

^fEcology and Biodiversity, Institute of Environmental Biology, Utrecht University, Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, The Netherlands

^gLaboratoire de Chrono-Environnement, UMR CNRS 6249, UFR des Sciences et Techniques, 16 route de Gray, Université de Franche-Comté, F-25030 Besançon, France

^hEDYTEM Environnements, DYnamiques et TERRitoires de la Montagne, Université de Savoie Laboratoire EDYTEM - UMR5204, Bâtiment « Pôle Montagne », F-73376 Le Bourget du Lac cedex

Corresponding author: Tel.: +33-4-7676-2782;

E-mail address: jeremy.puissant@irstea.fr

Abstract

The fate of soil organic matter (SOM) accumulation/decomposition is a major issue since a small modification of its global stock may alter the atmospheric greenhouse gases concentration at a decadal timescale. This is especially true for mountain soils which stocks huge quantities of carbon as particulate organic carbon (POM) which may be highly vulnerable to climate change. Here, we studied by an experimental climate manipulation the dynamics of SOM pools of a Swiss Jura mountain grassland soils under climate change. The climate manipulation (altitudinal soil transplantation) was set up in October 2009 and simulated two realistic climate change scenarios. On the fourth year of this experiment, we performed, at two contrasted season (winter and summer), a soil physical fractionation to extract several SOM fractions with contrasted turnover rates. The studied SOM fractions included the water extractable organic C (WEOC), the free POM (freePOM), the occluded POM (occPOM) and the mineral associated organic matter (MAOM). Ultraviolet (UV) and mid-infrared (MIR) spectroscopy were used to analyze the chemistry of WEOC and POM respectively.

We found a strong sampling date effect (winter vs. summer) on the contribution to SOC of the most labile pool (WEOC and freePOM) whereas the contribution of more stable pools (occPOM and MAOM) was not affected. Thereby, the WEOC and freePOM contribution to SOC were higher at the summer sampling date. The chemistry of WEOC, freePOM and occPOM showed a strong seasonal pattern certainly due to the indirect effect of seasonal changes of fresh plant debris inputs. The four-year climate manipulation affected directly SOM dynamics, with a decrease in SOC content for the bulk soil and a decrease in clay content which were surprisingly associated with a decreased MAOM-C, the most resistant SOM fraction to enzymatic decomposition. Overall, our results highlight the importance of (i) quantifying the seasonal dynamics of labile SOM pools and (ii) considering SOM outputs linked with other processes than microbial respiration such as erosion or SOM leaching so as to understand the fate of soil carbon change in a warming world.

Keywords: Soil organic matter fractions; Water extractable organic carbon; Mineral associated organic matter; Infrared spectroscopy; Particulate organic matter

Introduction

Soil organic matter (SOM), the main resource of the heterotrophic soil food chain, consists of a complex mixture of biopolymers resulting from the decomposition of plant, animal and microbial residues (Kögel-Knabner, 2002; Lehmann et al., 2008). The fate of SOM accumulation/decomposition is a major issue since a small modification of its global stock may alter the atmospheric greenhouse gases concentration at a decadal timescale (Eglin et al., 2010; Comité Scientifique GESSOL, 2015). The decomposition of SOM is achieved by microbial communities which exudate a variety of extracellular enzymes into the soil matrix depolymerising SOM compounds (Burns et al., 2013).

However, several specific mechanisms that can operate simultaneously in soils prevent SOM from enzyme decomposition and thus preserve SOM compounds that would otherwise be rapidly degraded. These are : (i) the selective preservation of recalcitrant materials: a key process during the early phase of the decomposition process (i.e. months to years); (ii) the spatial inaccessibility of SOM compounds (e.g. soil aggregate formation, hydrophobicity of SOM compounds), (iii) the adsorption/coprecipitation of SOM on/by mineral surfaces and (iv) pedoclimatic conditions detrimental to SOM mineralization (e.g., freeze-thaw cycles, low soil pH) (Leifeld et al., 2009; Sollins et al., 2007; Torn et al., 2009; von Lützow et al., 2006). Depending on the stabilization mechanisms involved, SOM compounds can remain in soils from days to millennia, and can therefore be roughly classified into SOM pools with contrasting turnover rates (Baisden et al., 2002; Leifeld et al., 2009; Wang et al., 2005).

Many physical and/or chemical SOM fractionation methods have been developed to isolate C pools with contrasting turnover rates (von Lützow et al., 2007). The combination of sizes and density separation can provide such SOC fractions with specific residence time (Sohi et al., 2001; von Lützow et al., 2007).

The water extractable organic C (WEOC, $<0.45\mu\text{m}$) could be viewed as the resource readily available for microbial communities (Marschner and Kalbitz, 2003). This proxy of available organic C could have different names depending on the extraction methods used (e.g dissolved organic carbon (DOC), WEOC, leaching-extractable organic carbon (LEOC)) (Guigue et al., 2014). Although soil WEOC only accounts for a few percents of SOC (ca. 0.05-2%, see the review from (von Lützow et al., 2007)), some components of this fraction cycle extremely rapidly (ca. 4000 times a year, (Boddy et al., 2007)) underlining its key functional role in soil. Climate conditions are known to alter the WEOC/DOC fraction

(Embacher et al., 2007). Thereby, a seasonal variability in its concentration (Embacher et al., 2007; Toberman et al., 2008) and in its bulk chemistry as studied by UV or fluorescence spectroscopy (Zsolnay, 2003) is generally found. However, there is still a marked gap in the understanding of the WEOC dynamics in soils (Embacher et al., 2007).

The labile particulate organic matter (POM) fraction consists mainly of plants debris weakly decomposed (Poirier et al., 2005; von Lützow et al., 2007). The POM fraction may be further separated into a free POM fraction (freePOM) corresponding mostly to fresh plant residues which are free in the soil matrix, and an occluded POM (occPOM) fraction corresponding to plant residues occluded within soil aggregates. The turnover rate of the freePOM fraction is generally higher than the one of the occluded POM, illustrating the stabilization effect of soil aggregation on the occPOM fraction (Leifeld and Fuhrer, 2009; Six et al., 2002; von Lützow et al., 2007). The freePOM fraction has been reported to have mean residence times of 22 years, 6 years whereas reported mean residence times of the occPOM fraction ranged from 83 years to 28 years according to respectively (John et al., 2005; Baisden et al., 2002;). Even if POM fractions are generally considered as relatively fast cycling SOM pools, their turnover can be altered in cold areas where climate and low pH conditions may temporarily stabilize these labile POM fractions, with a mean age of 80-90 years for the free POM fraction of Swiss mountain grassland soils (Budge et al., 2011; Leifeld et al., 2009, Meyer et al, 2012). Spectrometric studies such as ^{13}C nuclear magnetic resonance (NMR), infrared (IR) have shown differences in the bulk chemistry of the free and occPOM fractions, with a more decomposed POM in the occluded than in the freePOM fraction (Helfrich et al., 2006; Kölbl and Kögel-Knabner, 2004; Poirier et al., 2005). Such chemical differences between both fractions may be linked to their different turnover rates.

The remaining materials after density fractionation correspond to the mineral associated organic matter (MAOM) fraction. The MAOM fraction consists of slow cycling C pool, with a low turnover rate (142-250 years in Meyer et al, 2001; 534 years in Budge et al, 2011) and a highly decomposed SOM (high NMR alkyl-C/O-alkyl-C ratio; Baisden et al., 2002; Karen Budge et al., 2011)

Climate conditions have a huge impact on C dynamics in soils (Carvalhais et al., 2014). Apart from the direct effect of climate on net ecosystem production and microbial decomposition efficiency, climate conditions could also influence the degree of SOM protection and thus govern the OM availability to enzyme decomposition. Conant et al (2011) recently highlighted the possible impact of a temperature increase on each of the various

biogeochemical processes controlling soil OM availability for microbial decomposition in a new conceptual model. Indeed, the four stabilization mechanisms of SOM may be sensitive to a temperature increase (Conant et al., 2011; Davidson and Janssens, 2006), and SOM mineralization by microbial communities is largely dependent on changes in soil moisture (e.g. Moyano et al., 2012). However, it is still largely unknown how climate change impacts SOM pools making difficult to anticipate the future fate of soils to act as carbon sinks or sources (Randerson et al., 2006; Schmidt et al., 2011; Torn et al., 2009).

Mountain soils present the specificity to store large amounts of soil organic carbon, consisting mainly of labile POM (Leifeld et al., 2009; Saenger et al., 2015, 2013; Sjögersten et al., 2011). In mountain grassland soils, POM has been shown to represent from 20 to 80 % of total C stocks in the first 10 cm of mineral soils (Leifeld and Kögel-Knabner, 2005; Leifeld et al., 2009; Saenger et al., 2015). Such carbon stocks may thus be highly vulnerable to climate change that could remove a major constraint on SOM decomposition (Sjögersten et al., 2011; Torn et al., 2009). In mountain regions, climate change is already modifying both the intensity and the duration of seasons (e.g. shorter period of snow cover, increased occurrence of summer droughts and freeze-thaw cycles in soils during winter, longer growing season; Gobiet et al., 2014). Such seasonal modifications of soil microclimate and vegetation are likely to alter the C dynamics of mountain soils, underlining the need to study the intra-annual dynamics of fast cycling SOM pools. Indeed, understanding the seasonal dynamics of WEOC and POM fractions and their chemical properties under climate change may be very relevant for improving process-based models of SOC dynamics which have currently a high uncertainty on the dynamics such fast cycling but major SOM pools in soils from cold areas (Manzoni and Porporato, 2009; Stockmann et al., 2013).

In this study, we investigated the effects of an experimental climate manipulation on the dynamics of SOM pools of subalpine grasslands from the Swiss Jura. We focused on the size and the chemistry of four SOC fractions (WEOC, freePOM, occPOM and MAOM fractions) at two sampling dates representing two contrasted seasons (winter and summer). The climate manipulation consisted of a soil altitudinal transplantation experiment of grassland turfs in mesocosm boxes. This four years climate experiment simulated two climate change scenarios close to current predictions for the 21th century in this temperate mountain region (C2SM, 2011; Frei et al., 2006; Meehl et al., 2007).

We hypothesized that (i) the labile WEOC fraction should be the SOC fraction showing the largest response (quantity and chemistry) to climatic modifications (seasons and soil transplantation); (ii) the POM-C fractions should represent a large proportion of total SOC as previously reported for mountain grassland soils (Budge et al., 2011; Leifeld et al., 2009; Saenger et al., 2015); (iii) the distribution of the freePOM fraction should follow the plant annual dynamics with greater amounts of fresh freePOM in summer, and fewer amounts of relatively more chemically processed freePOM in winter; (iv) the most stable C pool (MAOM fraction) should not be strongly affected by climate modifications.

Materials and methods

2.1 Study site, climate change experiment and seasonal sampling

The experiment is located in the Swiss Jura mountain range and consists of a high-to-low elevation soil translocation that simulates a climate warming with an average temperature increase of +2 °C and +4 °C and a precipitation decrease of 20 % and 40 % at the intermediate site and at the lowest the site respectively. All details of this climate change experiment started in 2009 can be found in Gavazov (2013) and Gavazov et al (2013). Briefly, mecosoms turf containing monoliths of undisturbed soil (30 cm depth) and vegetation, were randomly taken from a mesic grassland grazed by cattle located at 1350 m a.s.l. and transplanted to (i) a control site (1,350 m a.s.l., Les Amburnex, N 46°54', E 6°23'); (ii) an intermediate site (1,010 m a.s.l. , Saint-George, N 46°52', E 6°26') and to (iii) a low-elevation site (570 m a.s.l., Arboretum d'Aubonne, N 46°51', E 6°37'). Five replicate mesocoms were transplanted per site. The main vegetation consists of graminoids with few forbs and the soil is a Hypereutric Cambisol (IUSS Working Group WRB, 2014) on Jurassic limestones. During the fourth year of the soil transplantation experiment (2012-2013), two sampling campaigns were performed in winter and summer (February 20th 2013, September 2nd 2013, respectively). Five intact cores of topsoil (5 cm diameter × 10 cm length) per site (one core per mecosom) were taken at each sampling date (Puissant et al., 2015).

2.2 Soil microclimate

The soil temperature and soil volumetric water content were monitored in all mesocosms during the four years of the experiment (Gavazov, 2013). Details of the soil microclimate conditions at the two sampling dates corresponding to winter 2013 and summer 2013 season

can be found in Puissant et al. (2015). Briefly, the winter sampling date was characterized by a soil temperature of ca. 1 °C for all sites and a gravimetric soil water content (0-10cm) of ca. 45%. Conversely, soil temperature and moisture showed significant differences between transplantation sites at the summer sampling date, with a daily mean temperature of 13.2 °C, 16.1 °C, 18.4 °C and a volumetric water content of 33 %, 26 % and 21 % for the control, the intermediate and the lowest sites, respectively. Globally, our climate manipulation decreased by 2 °C and 4 °C the mean annual soil temperature (November 2012 to October 2013) at the intermediate (1,010m) and at the lowest (570m) sites respectively. Manipulated soil moisture showed a clear decrease throughout the year at the lowest site and a more complex pattern at the intermediate site depending on the season. Moreover, the duration of each season was impacted by our climate manipulation experiment with a longer and warmer plant growing season at the intermediate and the lowest sites (Puissant et al., 2015).

2.3. Basic characterization of bulk soil samples

Gravimetric soil water content was measured by drying soil at 105 °C for 48 h according to NF ISO 16586 (2003). For all chemical and texture analyses of bulk topsoils (0-10 cm), samples were dried at 40 °C and sieved (2 mm) following NF ISO 11464 (2006). The particle size distribution (i.e. soil texture) was determined by wet sieving and sedimentation using the Robinson pipette method, according to NF X31-107. Soil pH was measured in H₂O (1:5 vol:vol) according to the norm NF ISO 10390 (2005). Calcareous content was determined following the norm NF ISO 10693 (1995). Soil cations exchange capacity (CEC) was determined according to Metson method described in the norm NF X 31-130 (1999). Organic C and total nitrogen (N) concentrations were measured by the Dumas dry combustion method after decarbonation (NF ISO 10694, 1995; and 13878, 1995, respectively).

2.4 Water-extractable organic C fraction

To obtain the WEOC fraction, 40 mL of deionized water were added to 10 g of moist sieved (2 mm) soil, and shaken for 20 minutes at 250 rpm. Samples were then centrifuged at 10,000 g for 10 minutes and the solution was then filtered through 0,45 mm Millipore filter and immediately stocked at -20 °C before analysis. Soil WEOC content was measured using a total organic carbon analyzer (Shimadzu Inc., Kyoto, Japan). The analyzer was calibrated for total dissolved C (TDC) and dissolved inorganic C (DIC) using a calibration solution of potassium hydrogen phthalate (C₈H₅KO₄) and a solution containing a mixture of sodium

hydrogen carbonate (NaHCO_3) and sodium carbonate (Na_2CO_3) for TDC and DIC respectively. WEOC was calculated as the difference between TDC and DIC and expressed in mg C.g^{-1} soil.

2.5. Soil organic matter density fractionation

Three SOM fractions (freePOM, OccPOM and MAOM) were separated by density fractionation of oven dried (40°C) and sieved ($< 2\text{ mm}$) soil samples following Leifeld et al. (2005, 2009) and Zimmerman et al. (2009). Briefly, 15 g of soil were placed into a 50 mL centrifuge tube. A sodium polytungstate solution (density = 1.6 g.cm^{-3}) was added up to the 50 mL line and the tube was gently inverted several times. After 2 hours, floating materials ($< 1.6\text{ g cm}^{-3}$) corresponding to the freePOM fraction, were collected and washed thoroughly with deionized water through $0.45\text{ }\mu\text{m}$ nitrocellulose membrane filters. This first step was repeated four times to obtain all remaining freePOM. Then the remaining pellet was re-suspended in sodium polytungstate and treated with ultra-sonication (22 J.mL^{-1} in an ice bath using a Branson 250 calibrated according to Schmidt et al (1999) so as to breakdown all soil macro-aggregates (Leifeld and Kögel-Knabner, 2005). After sonication, samples were centrifuged at $10,000\text{ g}$ for 10 minutes and floating materials (occPOM fraction) were collected and washed thoroughly with deionized water through $0.45\text{ }\mu\text{m}$ nitrocellulose membrane filters. This step was repeated four times to collect all occPOM released by the sonication treatment. The remaining pellet corresponding to the MAOM fraction was centrifuged, re-suspended and washed with deionized water through $0.45\text{ }\mu\text{m}$ nitrocellulose membrane filters several times, until obtaining an electrical conductivity $< 0.50\text{ mS cm}^{-1}$ (Leifeld and Kögel-Knabner, 2005; Meyer et al., 2012). We choose to use $0.45\text{ }\mu\text{m}$ nitrocellulose membrane filters so as to characterize the SOC fraction until the until the WEOC size definition. All washed fractions were oven dried at 40°C and weighted. Organic C and total N concentrations of the freePOM, occPOM and MAOM fractions were determined using the same methods than for bulk soil samples (see section 2.3). Organic C and total N concentrations of SOM fractions (expressed as g C or N.kg^{-1} SOM fraction) were then computed as percent of the SOC and total N contents of bulk soil samples (i.e. SOC and total N distribution in SOM fractions)..

2.6. Bulk chemistry of the soil organic matter fractions

2.6.1 Bulk chemistry of the WEOC fraction

The chemistry of the WEOC fraction was roughly assessed using ultraviolet (UV) spectroscopy. The absorbance of the WEOC fraction at 280 nm was used as an indicator of its aromaticity (Kalbitz et al., 2003).

2.6.2. Bulk chemistry of the POM fractions

The bulk chemistry of the POM fractions (freePOM and occPOM) was assessed using mid-infrared (MIR) spectroscopy. Prior to these analyses, POM fractions were ball-milled (< 0.25 mm using a Retsch ZM 200) and further dried overnight at 40 °C to limit interferences with water, without altering OM bulk chemistry. Crushed samples were analyzed using a Nicolet iS10 FT-IR spectrometer (Thermo Fisher Scientific Inc., Madison, WI, USA). Spectral acquisition was performed by diamond attenuated total reflectance (MIR-ATR) spectroscopy over the spectral range 4,000–650 cm^{-1} , with spectral resolution of 4 cm^{-1} and 16 scans per replicate (2 replicates per sample). All MIR-ATR spectra were corrected for atmospheric interferences (H_2O and CO_2). Spectral data were further processed and analyzed using the hyperSpec (Beleites and Sergo, 2011), signal (signal developers, (2013)) and ptw (Bloemberg et al 2010) packages under the R environment software version 2.14.0 (R Development Core Team 2011). Five spectral regions corresponding to specific C functional groups were chosen for further characterization (1) the saturated hydrocarbons (SAT) region 2,750–3,025 cm^{-1} corresponding to alkyl C (CH_2 , CH_3 , and CH); (2) the unsaturated (UNSAT) region 1,700–1,760 cm^{-1} and 1,576–1,618 cm^{-1} corresponding to $\text{C}=\text{O}$ and aromatic $\text{C}=\text{C}$ bonds respectively; (3) the polysaccharide (POLY) region 1,222–1,287 cm^{-1} corresponding to O-Alkyl C, and (4) the aromatic CH (AROCH) region 852–898 cm^{-1} (Supplementary Fig.S1). The contribution of minerals (e.g. phyllosilicates) or polytungstate pollution to the intensities of the five waveband regions was negligible for these POM fractions. The selected wavebands were used to calculate seven proxies of POM bulk chemistry according to Pengerud et al (2013) and Robroek et al. (2015): (1) SAT/SOC = hydrophobicity index (SAT = saturated hydrocarbons = Alkyl C, and SOC = soil organic carbon content); (2) $\text{C}=\text{O}/\text{SOC}$ (index of oxidation); (3) $\text{C}=\text{C}/\text{SOC}$ (aromaticity index); (4) $\text{MI} = \text{C}=\text{C}/\text{UNSAT}$ (maturation index) (5) POLY/SOC (polysaccharide content); (6) $\text{AROCH}/\text{C}=\text{C}$ (condensation index = degree of

condensation of aromatics), (7) SAT/POLY to estimate the Alkyl-C/Alkyl-O which is used as an indicator of microbial transformation (Budge et al, 2011).

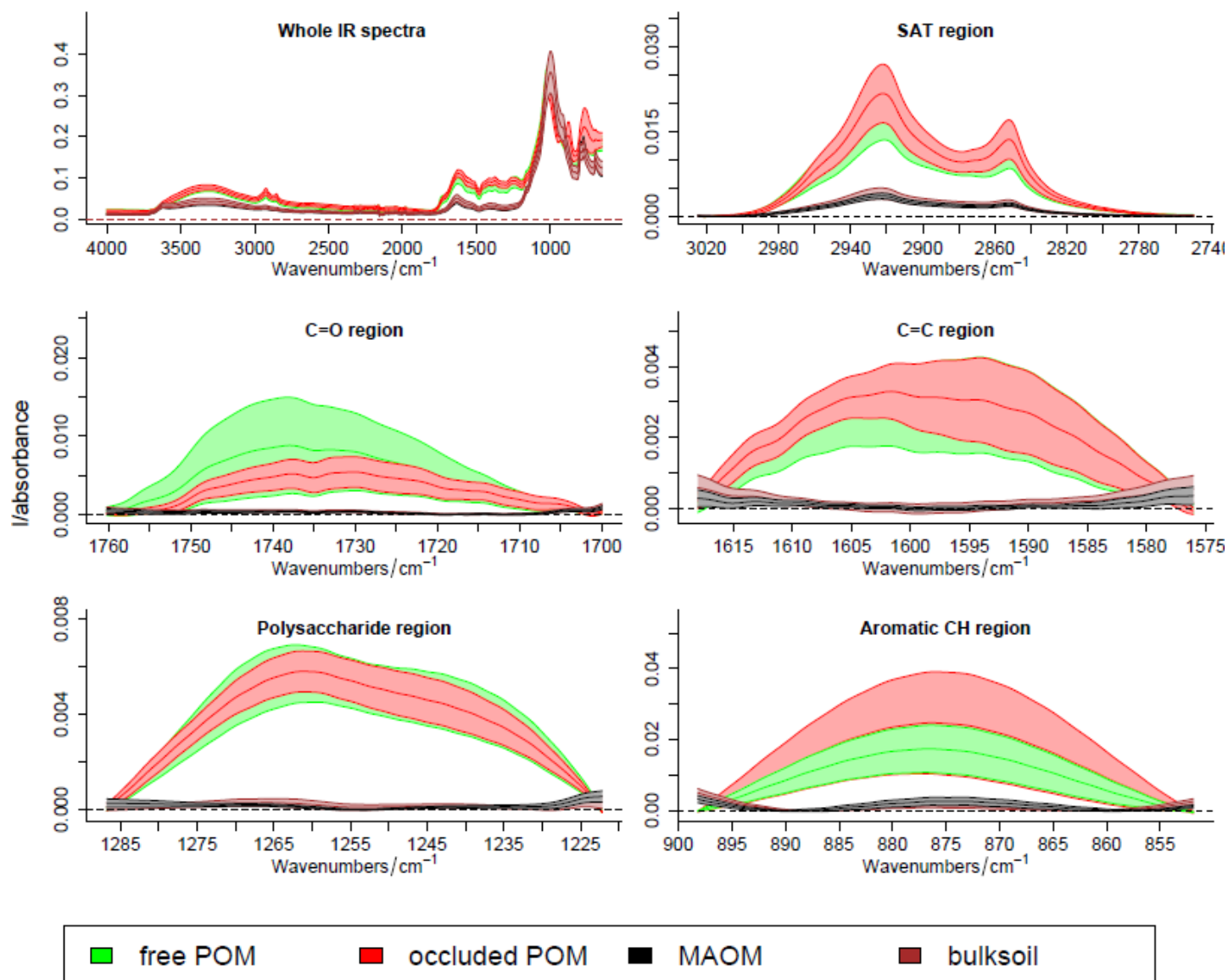


Figure S1. Five spectral regions selected corresponding to specific C functional were chosen to build mid-infrared spectroscopy index. The whole spectra chart indicate a strong IR signal between POM fraction (free and occluded) and both MAOM and the bulksoil.

2.7. Statistical analyses

The effect of climate conditions (soil transplantation and sampling dates) and the effect of SOM pools (i.e. SOM fractions) and their interactions on C, N concentration, SOC and total N distribution and chemistry (UV and MIR-ATR spectroscopy indices), were assessed by three-way mixed ANOVAs. Fixed factors were the sampling date, the transplantation site and the SOM fraction, while the actual mesocosm was added as a random factor and the sampled core (from which the SOM fraction originates) as a nested factor. Data were log or square root transformed when necessary to respect assumptions of normality and homoscedasticity of the residuals. To test the effect of soil microclimate on each SOM fraction separately, two-way mixed ANOVAs were performed with the sampling date and the transplantation site as fixed factors and the actual mesocosm as a random factor. When significant ANOVAs were obtained at the 5 % error probability threshold, a Tukey's post-hoc test was applied. All statistical analyses were performed under the R environment software 2.14.0 (R Development Core Team 2011), using the R package NLME (Pinheiro et al., 2014).

Results

3.1 Basic soil characteristics

All soils from the transplanted mesocosms were determined as clay textured soils (USDA texture triangle). However, an effect of the climate manipulation on soil texture was observed with a significant decrease in clay content under the intermediate climate change scenario (clay content = 40.2 % at Saint George transplantation site, 1,010 m a.s.l.) compared to the control site (clay content = 52.6 % at Les Amburnex, 1,350 m a.s.l.; p-value = 0.02; Table 1). Clay content at the lowest site (Arboretum d'Aubonne, 570 m a.s.l.) was not significantly different to the control site and intermediate site (p-value = 0.12 and 0.52 respectively; Table 1). SOC content of bulk topsoils showed a similar response to the climate manipulation with a significant decrease at the intermediate transplantation site in winter and summer and at the lowest site in summer (Table 1). SOC content showed a strong correlation with clay content ($r = 0.67$, p-value = 0.006). We did not observe any effect of climate manipulation on soil pH and CEC (Table 1). A seasonal effect on CEC was observed for the lowest site (Arboretum d'Aubonne, 570 m a.s.l.) with a lower value in summer (Table 1).

Sampling dates		Winter			Summer		
		(February 20 th 2013)			(September 2 nd 2013)		
Site (meters)	m a.s.l.	570	1010	1350	570	1010	1350
Soil moisture	%	43 ± 2A	44 ± 2A	50 ± 2A	21 ± 1B a	26 ± 2B a	33 ± 1B b
Soil temperature	%	1,2 ± 0,4A	1,2 ± 0,2A	0,6 ± 0,2A	18,4 ± 0,4B a	16,1 ± 0,1B b	13,2 ± 0,2B c
pH	-	5,7 ± 0,2A	5,9 ± 0,2	5,7 ± 0	5,4 ± 0,2B	5,7 ± 0,2	5,6 ± 0,1
Calcaire	g.kg ⁻¹	2,6 ± 0,2	2,2 ± 0,2	2,2 ± 0,4	3,6 ± 1,1	2,4 ± 0,2	1,8 ± 0,2
CEC	cmol.kg ⁻¹	33,9 ± 3,7A	32,2 ± 4,5	38,4 ± 1,5	26,2 ± 2,3B	29 ± 4	36,6 ± 1,7
SOC	g.kg ⁻¹	66,5 ± 4,3ab	60,7 ± 4,6b	77,5 ± 2,1a	69,8 ± 6,7a	57,2 ± 5,3a	81,1 ± 4,1b
Soil total nitrogen	g.kg ⁻¹	6,1 ± 0,4ab	5,7 ± 0,5a	7,4 ± 0,2b	5,8 ± 0,4a	5,2 ± 0,5a	7,5 ± 0,4b
C/N		10,8 ± 0,2	10,7 ± 0,2	10,5 ± 0,1	12 ± 0,8	10,9 ± 0,2	10,8 ± 0,1
Clay	g.kg ⁻¹		-		445 ± 40ab	402 ± 22a	526 ± 9b
Silt	g.kg ⁻¹		-		280 ± 16	283 ± 14	291 ± 6
Sand	g.kg ⁻¹		-		275 ± 56	315 ± 30	182 ± 10

Table 1: Basic soil characteristics for winter and summer sampling dates and experimental sites. Values represent the mean (n=5) with the associated standard error (SE). Post hoc HSD tests are only represented with different bold letters to indicate significant differences (p<0.05). Uppercase letters indicate significant differences between seasons (winter/summer) at each site. Lowercase letters indicate significant differences between sites (manipulation effect) at each season.

3.2 Distribution and bulk chemistry of organic C in SOM fractions

3.2.1 Water extractable organic carbon

The climate manipulation did not impact directly the WEOC content with no significant differences observed between transplantation sites (p -value = 0.14). However, the climate manipulation induced a significant seasonal change in WEOC content with lower WEOC content observed at the winter sampling date than at the summer sampling date, but only at the lowest transplantation site (570 m a.s.l.; Fig.1). Regarding the bulk chemistry of organic C in the WEOC fraction, its aromaticity measured by UV absorption at 280 nm was significantly higher at the summer sampling date than at the winter sampling date whatever the site considered. Conversely, no effect of the climate manipulation on the organic C aromaticity of the WEOC fraction was observed.

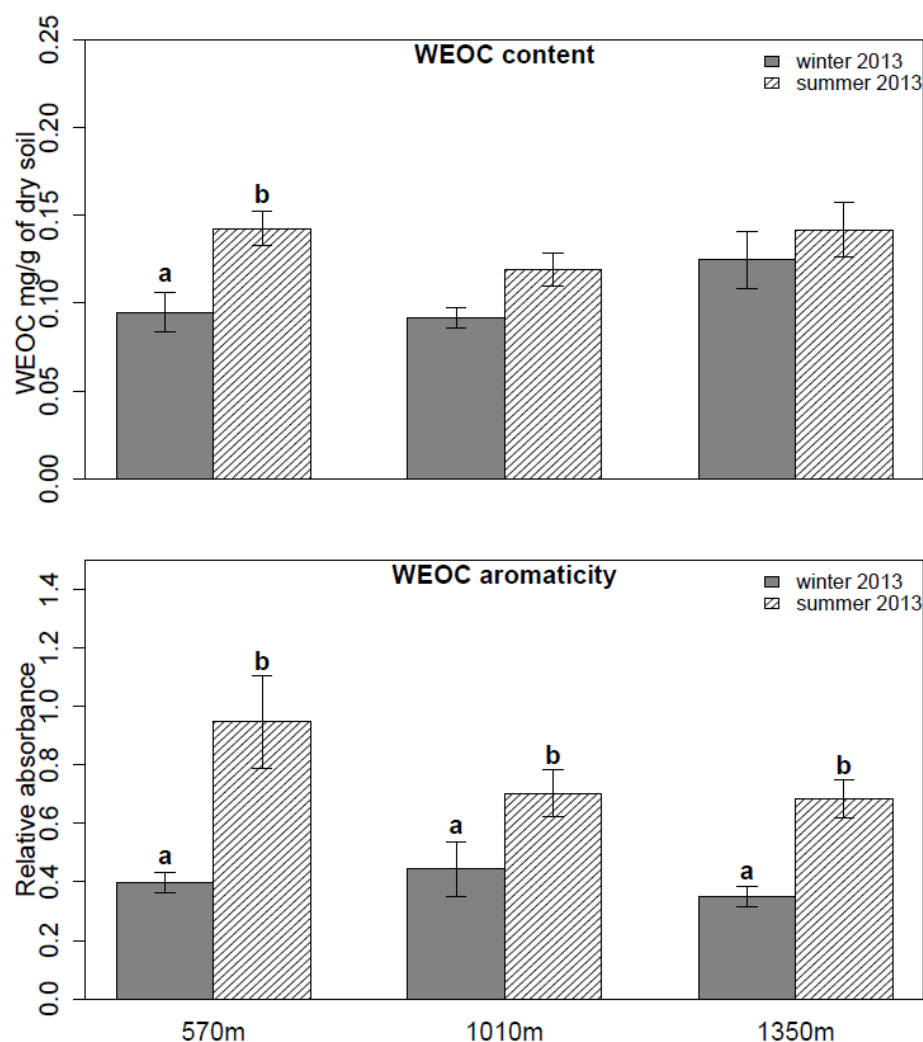


Fig.1. Water extractable organic carbon (WEOC) abundance and chemistry (aromaticity). Control site (1350 m a.s.l.); intermediate site (1010 m a.s.l.); lowest site (570 m a.s.l.). Post hoc HSD tests are only represented with different bold letters to indicate significant differences ($p < 0.05$). Lowercase letters indicate significant differences between seasons for each site.

3.2.2 SOM density fractions

The SOM fractionation scheme used in this study was rather conservative, with an average of only 4.7 % losses of total SOC content when summing the organic C contribution of each density fraction. The mean annual distribution of SOC in SOM fractions showed that most SOC belonged to the MAOM fraction (86 % of SOC content) while freePOM and occPOM embodied 6 % and 8 % of total SOC content respectively.

3.2.2.1. Free particulate organic matter (freePOM)

Even if the organic C content of the freePOM fraction increased significantly in winter compared to the summer sampling date (significant for the control site; Tab.2), the contribution to the SOC content of topsoils was strongly higher at the summer sampling date (10.1%) than at the winter sampling date (1.9%) for all sites, representing ca. 6.9 gC/kg dry soil in summer and 1.2 gC/kg dry soil in winter (Fig.2). The climate change manipulation suppressed this seasonal difference in freePOM C content (Table 2). Under the strongest climate change scenario (transplantation site = arboretum d'Aubonne at 570 m a.s.l.) and at the summer sampling date, the freePOM contribution to SOC content was the highest. The bulk chemistry of the freePOM fraction was not impacted by the climate manipulation except for the C=O/SOC index which was significantly lower in winter at the lowest site compared to the control site (Table 2). Conversely, the sampling date (winter vs. summer) strongly impacted the bulk chemistry of the freePOM fraction. Indeed, the freePOM fraction was less oxidized (C=O/SOC) and condensed (CI) and more aromatic at the winter sampling date than at the summer sampling date. This significant effect of the sampling date was generally observed at the control site but not at the two other transplantation sites even if a similar pattern could be observed (Table 2). The Alkyl-C/Alkyl-O ratio of the freePOM which can be used as an indicator of its degree of decomposition (Budge et al 2011) showed higher value at the winter sampling date even if this trend was significant only for the intermediate site (1010 m a.s.l.).

3.2.2.2 Occluded particulate organic matter (OccPOM)

Contrary to the freePOM, the contribution of the occPOM fraction to the SOC content of topsoils was neither impacted by seasons nor by the climate manipulation representing about 8 % of SOC content (i.e. 5.5 gC / kg dry soil; Fig.2). A strong sampling date effect on

occPOM organic C content was observed whatever the site considered with a more organic C concentrated occPOM in winter than in summer (Table 2).

The bulk chemistry of the occPOM fraction was not impacted by the climate manipulation. Conversely, we observed a significant effect of the sampling date on the bulk chemistry of the occPOM fraction. The organic C of the occPOM fraction was less hydrophilic (HI), had a lower PI index, and its aromatic C functional groups were less condensed (CI) at the winter sampling date than at the summer sampling date (Table 2). In contrast to the freePOM results, the C-alkyl/O-Alkyl ratio of the occPOM fraction was higher at the summer sampling date than at the winter sampling date even if this trend was significant only for the lowest site (570 m a.s.l.). Moreover, at the summer sampling date the C-alkyl/O-Alkyl ratio was lower in the freePOM than in the occPOM fraction (significant for the two lowest sites, Table 2). The C/N ratio was higher in freePOM than in occPOM at both sampling dates even if this difference was relatively low and only significant at the summer sampling date and at the intermediate site (Table 1).

3.2.2.3 Mineral associated organic matter (MAOM)

We observed a significant effect of the climate change manipulation on the MAOM carbon content with a lower MAOM organic C content at the intermediate (1,010 m a.s.l) and the lowest site (570 m a.s.l.) compared with the control site (1,350 m a.s.l.; Fig.2). The bulk organic chemistry of the MAOM fraction, roughly assessed with the C:N ratio, strongly differed from the chemistry of the freePOM and the occPOM fractions, with a decreasing C:N ratio from the freePOM (19.3), occPOM (18), to the MAOM (10) fraction.

Sampling dates	Winter			Summer		
	(February 20 th 2013)			(September 2 nd 2013)		
Site (meters)	570	1010	1350	570	1010	1350
OC content (g.kg of dry fraction)						
free POM	267 ± 14a	285 ± 15	309 ± 14A	243 ± 11	256 ± 6	256 ± 4B
occluded POM	329 ± 6b A	294 ± 8A	307 ± 8A	258 ± 3B	247 ± 18B	231 ± 11B
C/N						
free POM	19 ± 1	19 ± 2	19 ± 1	19 ± 1	20 ± 1a	19 ± 1
occluded POM	18 ± 0	18 ± 1	18 ± 0	17 ± 0	18 ± 1b	18 ± 0
MAOM	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0
HI index						
free POM	6.1 ± 0.2	6.5 ± 1	7 ± 0.6	5.4 ± 0.3a	6.2 ± 0.5a	5.7 ± 0.2
occluded POM	6 ± 0.3	6.1 ± 0.6A	5.6 ± 0.6	8.1 ± 0.9b	8.7 ± 0.8b B	7 ± 0.5
C=O/SOC						
free POM	9.8 ± 0.9A α	12.8 ± 2.9a αβ	18.8 ± 2.7a A β	4.7 ± 0.9B	7.6 ± 1.6	7.4 ± 0.6B
occluded POM	7.3 ± 0.9	6.1 ± 0.7b	5.9 ± 1.2b	6.8 ± 1	7.4 ± 1.1	5.9 ± 0.7
C=C/SOC						
free POM	3.3 ± 0.4	2.7 ± 0.6	1.7 ± 0.6A	3.3 ± 0.2	3.5 ± 0.5	3.9 ± 0.2B
occluded POM	3.1 ± 0.3	2.9 ± 0.3	3.9 ± 0.3b	3 ± 0.4	3.2 ± 0.7	3.6 ± 0.2
MI Index						
free POM	2.5 ± 0.4	2.1 ± 0.6a	1 ± 0.5aA	4.3 ± 0.7	3.3 ± 0.6	3.5 ± 0.2B
occluded POM	3 ± 0.4	3.3 ± 0.5b	4.2 ± 0.5b	3.2 ± 0.6	3.1 ± 0.8	3.9 ± 0.5
PI index						
free POM	8.5 ± 0.4	7.6 ± 0.7	9.8 ± 0.8	8 ± 0.2	9.5 ± 0.9	9.5 ± 0.3
occluded POM	8.2 ± 0.3	8 ± 0.7	8.1 ± 0.6A	8.5 ± 0.4	9.5 ± 0.6	10 ± 0.6B
CI Index						
free POM	6.3 ± 1.5	10.9 ± 4.6	15.6 ± 3.1a A	3.3 ± 0.7a	6 ± 0.9a	4.1 ± 0.5a B
occluded POM	2.5 ± 0.8A	5 ± 1.4A	3.1 ± 0.8b A	12 ± 1.6b B	18.5 ± 5.9b B	13.6 ± 2.8b B
Alkyl-C/Alkyl-O						
free POM	7.2 ± 0.7	7.6 ± 0.1A	7.1 ± 0.2	6.7 ± 0.4a	6.6 ± 0.4a B	6 ± 0.2
occluded POM	7.3 ± 0.3A	7.6 ± 0.1	6.9 ± 0.4	9.6 ± 1.2b B	9.2 ± 1.2b	7 ± 0.3

Table 2: Chemical characteristic of freePOM, occPOM and MAOM (C/N only).

Values represent the mean (n=5) with the associated standard error (SE). Post hoc HSD tests are only represented with different bold letters to indicate significant differences

($p < 0.05$). Uppercase letters indicate significant differences between seasons (winter/summer) at each site and fraction. Lowercase letters indicate significant differences between fractions at each season and site. Greek letters indicate significant differences between sites (manipulation effect) at each season and fraction.

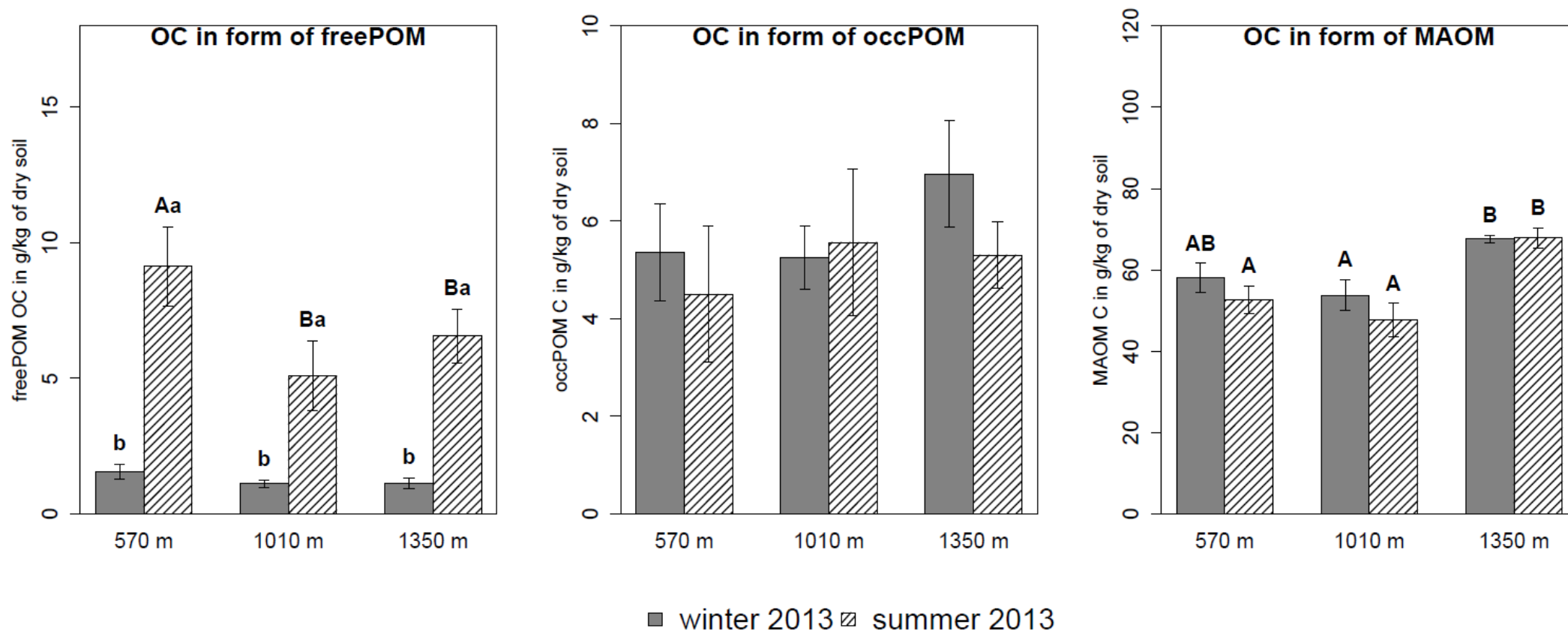


Fig.1. Amount of SOC (gC / kg dry bulk soil) in freePOM, occPOM and MAOM fractions. Control site (1350 m a.s.l.); intermediate site (1010 m a.s.l.); lowest site (570 m a.s.l.). Post hoc HSD tests are only represented with different bold letters to indicate significant differences ($p < 0.05$). Uppercase letters indicate significant differences between sites for each season. Lowercase letters indicate significant differences between seasons for each site.

Discussion

4.1. Relative contribution of SOM fractions to total SOC

With a relative amount of 0.09 to 0.34 % of total SOC, the WEOC fraction yielded the smallest contribution to SOC, as previously reported in other soil studies using similar methodologies (see e.g. Rees and Parker, 2005).

Contrary to our hypothesis, the POM-C fractions did not represent a large proportion of total SOC in these mountain grassland soils (i.e. 17.4 % at the summer sampling date and 10.6 % at the winter sampling date). This result contrasts with those from other studies on mountain soils which found that a large proportion of total SOC consisted of labile POM fractions (K. Budge et al., 2011; Leifeld et al., 2009; Martinsen et al., 2011; Saenger et al., 2015). Indeed, Martinsen et al (2011) reported that the POM fraction contained more than 60% of total SOC in the first 5 cm of a low-alpine (1050-1320 m a.s.l.) grasslands soil (with sheep grazing, or not) from southern Norway. Similar results were reported by Leifeld et al (2009) in the uppermost layers of high altitude (2200 m a.s.l.) mountain permanent grasslands with more than 80% of total SOC contained in the POM fraction. Saenger et al (2015) recently reported that 38 % of total SOC was found in the POM fraction in a French mesic grassland grazed by sheep on limestone at 1567 m a.s.l. Leifeld et al (2009), by combining several studies reported that the proportion of C-POM in the first 10 cm of Swiss mountain grassland soils ranged from ca. 24 to 27 % at 1210 to 1410 m a.s.l. These latter results were closer to our study (i.e. 17.4 % at the summer sampling date and 10.6 % at the winter sampling date) even if our results were based on the topsoil layer (10 cm) which should contain more POM-C than the 10 to 20 cm soil layer. Leifeld and Kögel-Knabner (2005) and Meyer et al (2012) have shown that the land use and the management type could impact the relative proportion of SOM fractions. Here the former pasture management (grazing by cattle) could partly explain the low proportion of POM-C in these mountain subalpine soils, with large parts of the herbaceous biomass taken up by grazing. Such effect of grazing on POM-C has already been reported (Martinsen et al, 2011 but see Leifeld and Fuhrer, 2009; Meyer et al 2012b). Overall, our results and those from the literature suggest that altitude and grazing may complexly interact to control the POM-C content of mountain topsoils.

In this study, SOM consisted thus mostly of MAOM which has achieved a higher degree of microbial transformation as attested by its low C:N ratio as compared to the

freePOM and occPOM fractions. A decreasing in C:N ratio from labile (POM) to the MAOM fraction is generally found (Budge et al, 2011; Golchin et al, 1994 ; Baisden et al, 2002). High amounts of MAOM-C with low C:N ratio suggest a rather high biogeochemical stability (and low turnover rate) of SOC in these mountain grassland soils, which contrasts with current knowledge presenting mountain soils as huge reservoir of labile C (Sjögersten et al., 2011; Leifeld et al., 2009; Saenger et al., 2015).

4.2. Seasonal dynamics of SOM fractions

In this mountain grassland, the seasonal climatic variation was characterized by a winter period with a continuous snow cover at all sites, and a warm and relatively dry summer. This intra-annual dynamics of climate conditions had a strong impact on fast cycling SOM pools.

Indeed, the WEOC fraction considered as the most available substrate for microorganisms was very sensitive to seasonal climatic variations. Thereby, we observed globally higher WEOC contents at the summer sampling date than at the winter sampling date. Such temporal dynamics of WEOM/DOM content is generally found, with higher WEOC content in the summer season (Yano et al., 2000; Kaiser et al., 2001). We also observed a sampling date effect on the WEOC chemistry, with a higher proportion of aromatic C at the summer sampling date than at the winter sampling date. Some studies also found more humic substances in the WEOC in the summer season (Kaiser et al 2001, Qualls and Haines, 1992), although few studies identified the seasonal pattern of WEOC chemistry, with often contradictory results (see the review by (Embacher et al., 2007). Contrary to WEOC abundance, higher microbial abundance and activity were observed in winter than in summer on the same plots and at the same sampling dates (Puissant et al, 2015). This result contrasts with several studies which reported a positive correlation between microbial activity and abundance with WEOC/DOC content (Marschner and Bredow, 2002; Marschner and Kalbitz, 2003; Rees and Parker, 2005). This negative relationship between the WEOC content and microbial activity and abundance may be linked to the chemistry of the WEOC fraction which was consistently more aromatic at the summer sampling date. Indeed, an increase of UV absorbance at 280nm (aromaticity) have been shown to decrease WEOC biodegradability (Marschner and Kalbitz 2003). Such seasonal decoupling between WEOC abundance and microbial biomass and activity could also indicate that WEOC may not be the limiting factor

for microbial biomass growth and activity in these subalpine mountain grasslands, especially during the summer season.

The freePOM fraction also showed an important seasonal pattern with a higher quantity and contribution to total SOC at the summer sampling date. This result could be linked to the seasonal root dynamics which is a significant component of soil C inputs in grassland and to the limited enzyme activity that was observed at the summer sampling date in the same mesocosms ((Gregorich et al., 2006; Hitz et al., 2001; Puissant et al., 2015). In contrast, the relative contribution of the occPOM fraction to total SOC did not show any seasonal trend underlining its different reactivity compared to freePOM as previously reported by (Meyer et al., 2011). However, seasonal differences in the chemical composition of occPOM were observed which seems to confirm the high turnover rate of macro soil aggregates (Cécillon et al., 2010; Plante et al., 2002; Six et al., 2004).

Mid-infrared ATR spectra gave a unique signature of the bulk organic chemistry (i.e. carbon functional groups) of the freePOM and the occPOM fractions (Cécillon et al., 2012; Pasquini, 2003; Pengerud et al., 2013). Chemical differences between both POM fractions were clearly identified using this technique. Interestingly, the bulk organic chemistry of the freePOM and the occPOM fractions showed a seasonal pattern, as well as the chemical differences between both POM-C fractions. At the summer sampling date, a higher Alkyl-C/Alkyl-O ratio was observed in the occPOM fraction compared with the freePOM fraction. This result was in agreement with several studies which reported a higher O-alkyl C content in fresh plant material of the freePOM fraction than in the more processed plant debris of the occPOM fraction (Kölbl et al., 2005; Poirier et al., 2005). Conversely at the winter sampling date, the Alkyl-C/Alkyl-O ratio was not different between both POM fractions, challenging our current knowledge of the bulk organic chemistry of POM fractions. The strong dynamics of soil macro aggregates turnover (Six et al 2004) could explain this seasonal pattern in the chemical differences between the freePOM and the occPOM fractions found in our study. Indeed, these results suggest that fresh OM inputs with low Alkyl-C/Alkyl-O ratio are incorporated into the freePOM fraction during the growing season (represented here by the summer sampling date), while the occPOM fraction contains more processed (i.e. older) plant debris with high Alkyl-C/Alkyl-O ratio. . In winter, these fresh organic materials are then incorporated into the occPOM fraction, explaining the lower Alkyl-C/Alkyl-O ratio at the winter than at the summer sampling date for the occPOM fraction. Overall, our results

underline the active ontogeny of plant detritus during the aggregation process on a seasonal timescale in those mountain grassland soils (Cécillon et al., 2010; Moore et al., 2004).

4.3. Seasonal impact of the climate manipulation experiment on the dynamics of SOM fractions

Four years of climate change manipulation affected directly SOM dynamics, with a decrease in organic C content for the bulk soil (Puissant et al, 2015). This climate-induced modification of SOC content was linked to an important textural change, with a decrease in clay content at the lower transplantation sites.

Previous investigations of the same soil transplantation experiment revealed the following effects of the climate manipulation on SOM dynamics: (i) a significant decrease in SOM outputs through respiration (Mills et al., 2014) ; which were confirmed by a decrease in soil enzyme pools; (Puissant et al, 2015); (ii) an increase in SOM outputs through dissolved organic matter leaching (increase of 9.9 mg.C.L^{-1} at the lowest site and of 4.2 mg.C.L^{-1} at the intermediate site; Gavazov, 2013); (iii) a decrease in SOM inputs (aboveground biomass production) under the most intensive climate change scenario (Gavazov et al., 2013).

Despite the decrease in aboveground production associated with the climate manipulation, the freePOM-C fraction increased significantly at the summer sampling date at the lowest site (570m +4K, -40% of humidity). The same trend was observed at the winter sampling date, although not significant. Here, the freePOM fraction could accumulate under climate manipulated conditions because of the decreased microbial activity (enzyme pools and soil respiration) observed on the same plots, probably due to the effect of water limitation at lower transplantation sites (Gavazov, 2013; Mills et al., 2014; Puissant et al, 2015).

As the contribution of the occPOM fraction was not impacted by the climate manipulation, the observed climate-induced decrease in bulk soil organic C content was thus only due to a decrease in MAOM-C, the most biogeochemically stable SOM fraction. Thus, our results hint more so towards an effect of SOM leaching (Gavazov, 2013) to explain the climate effect on SOC content than an effect of microbial and plant activities. Leaching losses of OC from grasslands have been shown to be comprised between 5 and 98 % of C net ecosystem exchange (Kindler et al., 2011). This highlights the need for improving our

knowledge on the specific response to climate change of the most stable fraction which could be highly sensitive to climate change (Conant et al., 2008; Davidson and Janssens, 2006) through organic C losses by leaching. Contrary to Gregorich et al (2006) we did not observed an effect of clay content on the proportion of organic C in the occluded light fraction. In general no effect of climate manipulation was observed on occPOM-C content and chemistry, which contrasts with some studies showing that physical occlusion of OM within soil aggregates could be affected by the climate conditions like frost-thaw cycles and soil precipitation regime (Cécillon et al., 2010; Davidson and Janssens, 2006). However we observed an indirect effect of the climate manipulation on the chemical differences of OM between occPOM and freePOM fraction that may indicate an alteration of the occPOM turnover rate.

Conclusion

Our study showed that most of the SOC content of these subalpine grassland soils was contained in the stable MAOM fraction. As expected, the most labile C pools (WEOC and freePOM) showed a high intra-annual dynamics (amounts and chemistry) certainly due to the indirect effect of seasonal changes of fresh plant debris inputs. The amount of OM occluded into soil aggregates was constant over the year whereas its chemistry changed confirming its relatively short turnover time (Six et al, 2004).

Four years of reduced precipitation and higher mean annual temperature lead to a decrease of total SOC concentration due to a decrease of SOC content in MAOM fraction. The most probable hypothesis is that climate change manipulation induced higher SOM leaching which is confirmed by higher DOC leaching measured on the same experiment by Gavazov (2013). The most stable fraction to SOM decomposition may thus be the most sensitive fraction to climate change through clay-SOM leaching in this subalpine grassland. A previous study on same the transplantation experiment, focusing on microbial response to climate change manipulation failed to explain the change in SOC content (Puissant et al, 2015). Here our results highlight the importance of (i) quantifying the seasonal dynamics of labile SOM pools and (ii) combining the assessment of SOC loss through organic C respiration as well as

organic C leaching, so as to better understand the SOC dynamics under climate change conditions.

Acknowledgements

This work has been funded by IRSTEA, by the CCES (Competence Center Environment and Sustainability of the ETH Domain, Switzerland) as part of the Mountland project, and supported by a grant from Labex OSUG@2020 (Investissements d'avenir – ANR10 LABX56) and by a grant from the French Ministry of Higher Education and Research (Ph.D. thesis of J. Puissant, EDISCE Doctoral School). BJMR was supported through the Netherlands Organization for Scientific Research (NWO; Research Innovation Scheme 863.10.014). The Laboratoire d'Ecologie Alpine (LECA) is thanked for providing the equipment for soil enzymes measurements. T.Goïtré and T. Rolland are thanked for the help for soil fractionation works.

References

- Baisden, W.T., Amundson, R., Cook, A.C., Brenner, D.L., 2002. Turnover and storage of C and N in five density fractions from California annual grassland surface soils. *Global Biogeochemical Cycles* 16, 64–1–64–16. doi:10.1029/2001GB001822
- Beleites, C. and Sergo, V., 2012. HyperSpec: a package to handle hyperspectral data sets in R. R package v. 0.98-20110927. <http://hyperspec.r-forge.r-project.org>
- Bloemberg, T.G., Gerretzen, J., Wouters, H.J.P., Gloerich, J., van Dael, M., Wessels, H.J.C.T., van den Heuvel, L.P., Eilers, P.H.C., Buydens, L.M.C. and Wehrens, R., 2010. Improved parametric time warping for proteomics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 104 (1), 65–74. doi:10.1016/j.chemolab.2010.04.008
- Boddy, E., Hill, P.W., Farrar, J., Jones, D.L., 2007. Fast turnover of low molecular weight components of the dissolved organic carbon pool of temperate grassland field soils. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 827–835.
- Budge, K., Leifeld, J., Hiltbrunner, E., Fuhrer, J., 2011. Alpine grassland soils contain large proportion of labile carbon but indicate long turnover times. *Biogeosciences* 8, 1911–1923. doi:10.5194/bg-8-1911-2011
- Burns, R.G., DeForest, J.L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R.L., Stromberger, M.E., Wallenstein, M.D., Weintraub, M.N., Zoppini, A., 2013. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry* 58, 216–234. doi:10.1016/j.soilbio.2012.11.009
- C2SM, 2011. Swiss Climate Change Scenarios CH2011. doi:10.3929/ethz-a-006720559
- Carvalhais, N., Forkel, M., Khomik, M., Bellarby, J., Jung, M., Migliavacca, M., Mingquan, M., Saatchi, S., Santoro, M., Thurner, M., Weber, U., Ahrens, B., Beer, C., Cescatti, A., Randerson, J.T., Reichstein, M., 2014. Climate in Terrestrial Ecosystems. *Nature* 514, 213–217. doi:10.1038/nature13731

-
- Cambardella, C.A. and Elliott E.T., 1994. Carbon and Nitrogen Dynamics of Soil Organic Matter Fractions from Cultivated Grassland Soils. *Soil Science Society of America Journal* 58 (1), 123-130. doi:10.2136/sssaj1994.03615995005800010017x
- Cécillon, L., Certini, G., Lange, H., Forte, C., Strand, L.T., 2012. Spectral fingerprinting of soil organic matter composition. *Organic Geochemistry* 46, 127–136. doi:10.1016/j.orggeochem.2012.02.006
- Cécillon, L., Mello, N. a., Danieli, S., Brun, J.-J., 2010. Soil macroaggregate dynamics in a mountain spatial climate gradient. *Biogeochemistry* 97, 31–43. doi:10.1007/s10533-009-9341-9
- Conant, R.T., Drijber, R. a., Haddix, M.L., Parton, W.J., Paul, E. a., Plante, A.F., Six, J., Steinweg, J.M., 2008. Sensitivity of organic matter decomposition to warming varies with its quality. *Global Change Biology* 14, 868–877. doi:10.1111/j.1365-2486.2008.01541.x
- Conant, R.T., Ryan, M.G., Ågren, G.I., Birge, H.E., Davidson, E.A., Eliasson, P.E., Evans, S.E., Frey, S.D., Giardina, C.P., Hopkins, F.M., Hyvönen, R., Kirschbaum, M.U.F., Lavallee, J.M., Leifeld, J., Parton, W.J., Megan Steinweg, J., Wallenstein, M.D., Martin Wetterstedt, J.Å., Bradford, M.A., 2011. Temperature and soil organic matter decomposition rates - synthesis of current knowledge and a way forward. *Global Change Biology* 17, 3392–3404. doi:10.1111/j.1365-2486.2011.02496.x
- Davidson, E. a, Janssens, I. a, 2006. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440, 165–73. doi:10.1038/nature04514
- Developers, Signal, 2013. Signal: signal processing. URL <http://r-forge.r-project.org/projects/signal>
- Eglin, T., Ciais, P., Piao, S.L., Barre, P., Bellassen, V., Cadule, P., Chenu, C., Gasser, T., Koven, C., Reichstein, M., Smith, P., 2010. Historical and future perspectives of global soil carbon response to climate and land-use changes. *Tellus* 62B, 700–718. doi:10.1111/j.1600-0889.2010.00499.x

-
- Embacher, A., Zsolnay, A., Gatterer, A., Munch, J.C., 2007. The dynamics of water extractable organic matter (WEOM) in common arable topsoils: I. Quantity, quality and function over a three year period. *Geoderma* 139, 11–22.
doi:10.1016/j.geoderma.2006.12.002
- Frei, C., Schöll, R., Fukutome, S., Schmidli, J., Vidale, P.L., 2006. Future change of precipitation extremes in Europe: Intercomparison of scenarios from regional climate models. *Journal of Geophysical Research* 111, D06105. doi:10.1029/2005JD005965
- Gavazov, K., Spiegelberger, T., Buttler, A., 2013. Transplantation of subalpine wood-pasture turfs along a natural climatic gradient reveals lower resistance of unwooded pastures to climate change compared to wooded ones. *Oecologia* 174, 1425–35.
doi:10.1007/s00442-013-2839-9
- Gavazov, K.S., 2013. Subalpine pasture-woodlands in a changing climate: The role of land use type in ecosystem resistance to simulated climate change. Thesis EPFL 5989. Lausanne, Switzerland.
- Gobiet, A., Kotlarski, S., Beniston, M., Heinrich, G., Rajczak, J., Stoffel, M., 2014. 21st century climate change in the European Alps-A review. *Science of the Total Environment* 493, 1138–1151. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.07.050
- Gregorich, E.G., Beare, M.H., McKim, U.F., Skjemstad, J.O., 2006. Chemical and Biological Characteristics of Physically Uncomplexed Organic Matter. *Soil Science Society of America Journal* 70, 975–985. doi:10.2136/sssaj2005.0116
- Guigue, J., Mathieu, O., Lévêque, J., Mounier, S., Laffont, R., Maron, P. a., Navarro, N., Chateau, C., Amiotte-Suchet, P., Lucas, Y., 2014. A comparison of extraction procedures for water-extractable organic matter in soils. *European Journal of Soil Science* 65, 520–530. doi:10.1111/ejss.12156
- Helfrich, M., Ludwig, B., Buurman, P., Flessa, H., 2006. Effect of land use on the composition of soil organic matter in density and aggregate fractions as revealed by solid-state ¹³C NMR spectroscopy. *Geoderma* 136, 331–341.
doi:10.1016/j.geoderma.2006.03.048

-
- Hitz, C., Egli, M., Fitze, P., 2001. Below-ground and above-ground production of vegetational organic matter along a climosequence in alpine grasslands. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 164, 389–397.
- IUSS Working Group WRB. 2007. World Reference Base for Soil Resources 2006, first update 2007. World Soil Resources Reports No. 103. FAO, Rome., n.d.
- John, B., Yamashita, T., Ludwig, B., Flessa, H., 2005. Storage of organic carbon in aggregate and density fractions of silty soils under different types of land use, in: *Geoderma*. pp. 63–79.
- Kaiser, K., Guggenberger, G., Haumaier, L., Zech, W., 2001. Seasonal variations in the chemical composition of dissolved organic matter in organic forest floor layer leachates of old-growth Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and European beech (*Fagus sylvatica* L.) stands in northeastern Bavaria, Germany. *Biogeochemistry* 55 (2), 103–143
- Kalbitz, K., Schmerwitz, J., Schwesig, D., Matzner, E., 2003. Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties. *Geoderma* 113, 273–291.
doi:10.1016/S0016-7061(02)00365-8
- Kindler, R., Siemens, J., Kaiser, K., Walmsley, D.C., Bernhofer, C., Buchmann, N., Cellier, P., Eugster, W., Gleixner, G., Grunwald, T., Heim, A., Ibrom, A., Jones, S.K., Jones, M., Klumpp, K., Kutsch, W., Larsen, K.S., Lehuger, S., Loubet, B., Mckenzie, R., Moors, E., Osborne, B., Pilegaard, K., Rebmann, C., Saunders, M., Schmidt, M.W.I., Schrumpf, M., Seyfferth, J., Skiba, U., Soussana, J.F., Sutton, M.A., Tefs, C., Vowinckel, B., Zeeman, M.J., Kaupenjohann, M., 2011. Dissolved carbon leaching from soil is a crucial component of the net ecosystem carbon balance. *Global Change Biology* 17, 1167–1185.
- Kögel-Knabner, I., 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology & Biochemistry* 34, 139–162.
- Kölbl, A., Kögel-Knabner, I., 2004. Content and composition of free and occluded particulate organic matter in a differently textured arable Cambisol as revealed by solid-state ¹³C NMR spectroscopy. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 167, 45–53.
doi:10.1002/jpln.200321185

-
- Kölbl, A., Leifeld, J., Kögel-Knabner, I., 2005. A comparison of two methods for the isolation of free and occluded particulate organic matter. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 168, 660–667. doi:10.1002/jpln.200521805
- Lehmann, J., Solomon, D., Kinyangi, J., Dathe, L., Wirick, S., Jacobsen, C., 2008. Spatial complexity of soil organic matter forms at nanometre scales. *Nature Geoscience* 1, 238–242. doi:10.1038/ngeo155
- Leifeld, J., Fuhrer, J., 2009. Long-term management effects on soil organic matter in two cold, high-elevation grasslands: clues from fractionation and radiocarbon dating. *European Journal of Soil Science* 60, 230–239. doi:10.1111/j.1365-2389.2008.01111.x
- Leifeld, J., Kögel-Knabner, I., 2005. Soil organic matter fractions as early indicators for carbon stock changes under different land-use? *Geoderma* 124, 143–155. doi:10.1016/j.geoderma.2004.04.009
- Leifeld, J., Zimmermann, M., Fuhrer, J., Conen, F., 2009. Storage and turnover of carbon in grassland soils along an elevation gradient in the Swiss Alps. *Global Change Biology* 15, 668–679. doi:10.1111/j.1365-2486.2008.01782.x
- Manzoni, S., Porporato, A., 2009. Soil carbon and nitrogen mineralization: Theory and models across scales. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 1355–1379. doi:10.1016/j.soilbio.2009.02.031
- Marschner, B., Bredow, A., 2002. Temperature effects on release and ecologically relevant properties of dissolved organic carbon in sterilised and biologically active soil samples. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 459–466.
- Marschner, B., Kalbitz, K., 2003. Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma* 113, 211–235. doi:10.1016/S0016-7061(02)00362-2
- Martinsen, V., Mulder, J., Austrheim, G., Myrnes, A., 2011. Carbon storage in low-alpine grassland soils: effects of different grazing intensities of sheep. *European Journal of Soil Science* 62, 822–833. doi:10.1111/j.1365-2389.2011.01393.x

-
- Meehl, G.A., Stocker, T.F., Collins, W.D., Friedlingstein, P., Gaye, A.T., Gregory, J.M., Kitoh, A., R. Knutti, J.M. Murphy, A. Noda, S.C.B. Raper, I.G. Watterson, A.J. Weaver and Z.-C. Zhao Meehl, G.A., T.F. Stocker, W.D. Collins, P. Friedlingstein, A.T. Gaye, J.M. Gregory, A. Kitoh, R. Knutti, J.M. Murphy, A. Noda, S.C.B. Raper, I.G. Watterson, A.J.W. and Z.-C.Z., 2007. The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller (eds.)]. Cambridge U.
- Meyer, S., Leifeld, J., Bahn, M., Fuhrer, J., 2011. Free and protected soil organic carbon dynamics respond differently to abandonment of mountain grassland. *Biogeosciences Discussions* 8, 9943–9976. doi:10.5194/bgd-8-9943-2011
- Meyer, S., Leifeld, J., Bahn, M., Fuhrer, J., 2012. Free and protected soil organic carbon dynamics respond differently to abandonment of mountain grassland. *Biogeosciences* 9, 853–865. doi:10.5194/bg-9-853-2012
- Meyer, S., Leifeld, J., Bahn, M., Fuhrer, J., 2012. Land-use change in subalpine grassland soils: Effect on particulate organic carbon fractions and aggregation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 175, 401–409. doi:10.1002/jpln.201100220
- Mills, R.T.E., Gavazov, K.S., Spiegelberger, T., Johnson, D., Buttler, A., 2014. Diminished soil functions occur under simulated climate change in a sup-alpine pasture, but heterotrophic temperature sensitivity indicates microbial resilience. *The Science of the total environment* 473-474, 465–72. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.12.071
- Moore, J.C., Berlow, E.L., Coleman, D.C., Ruiters, P.C., Dong, Q., Hastings, A., Johnson, N.C., McCann, K.S., Melville, K., Morin, P.J., Nadelhoffer, K., Rosemond, A.D., Post, D.M., Sabo, J.L., Scow, K.M., Vanni, M.J., Wall, D.H., 2004. Detritus, trophic dynamics and biodiversity. *Ecology Letters* 7, 584–600. doi:10.1111/j.1461-0248.2004.00606.x
- Moyano, F.E., Vasilyeva, N., Bouckaert, L., Cook, F., Craine, J., Curiel Yuste, J., Don, a., Epron, D., Formanek, P., Franzluebbers, a., Ilstedt, U., Kätterer, T., Orchard, V., Reichstein, M., Rey, a., Ruamps, L., Subke, J. a., Thomsen, I.K., Chenu, C., 2012. The

-
- moisture response of soil heterotrophic respiration: Interaction with soil properties. *Biogeosciences* 9, 1173–1182. doi:10.5194/bg-9-1173-2012
- NF ISO 16586, Soil quality., 2003. Determination of soil water content as a volume fraction on the basis of known dry bulk density - Gravimetric method. AFNOR
- NF ISO 11464, Soil quality., 2006. Pretreatment of samples for physico-chemical analysis. AFNOR
- NF X31-107, Soil quality, 2003. Determination of particle size distribution of the soil particles - Method pipetted. AFNOR
- NF ISO 10390, Soil quality, 2005. Determination of pH. AFNOR
- NF ISO 10693, Soil quality., 1995. Determination of carbonate content. Volumetric method. AFNOR
- NF X31-130, Soil quality, 1999. Determination of cation exchange capacity (CEC) and the extractable cations. AFNOR
- NF ISO 10694, Soil quality., 1995. Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis). AFNOR
- NF ISO 13878, Soil quality., 1995. Determination of total nitrogen content by dry combustion ("elemental analysis"). AFNOR
- Pasquini, C., 2003. Near infrared spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*.
- Pengerud, A., Cécillon, L., Johnsen, L.K., Rasse, D.P., Strand, L.T., 2013. Permafrost Distribution Drives Soil Organic Matter Stability in a Subarctic Palsa Peatland. *Ecosystems* 16, 934–947. doi:10.1007/s10021-013-9652-5
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., Core, T.R., 2014. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-117, <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>.

-
- Plante, A.F., Feng, Y., McGill, W.B., 2002. A modeling approach to quantifying soil macroaggregate dynamics. *Canadian Journal of Soil Science*.
- Poirier, N., Sohi, S., Gaunt, J., Mahieu, N., Randall, E., Powlson, D., Evershed, R., 2005. The chemical composition of measurable soil organic matter pools. *Organic Geochemistry* 36, 1174–1189. doi:10.1016/j.orggeochem.2005.03.005
- Puissant, J., Cécillon, L., Mills, R.T.E., Robroek, B.J.M., Gavazov, K., De Danieli, S., Spiegelberger, T., Buttler, A., Brun, J.-J., 2015. Seasonal influence of climate manipulation on microbial community structure and function in mountain soils. *Soil Biology and Biochemistry* 80, 296–305. doi:10.1016/j.soilbio.2014.10.013
- Qualls, R.G., Haines, B.L., 1992. Biodegradability of Dissolved Organic Matter in Forest Throughfall, Soil Solution, and Stream Water. *Soil Science Society of America Journal*.
- Randerson, J.T., Masiello, C. a., Still, C.J., Rahn, T., Poorter, H., Field, C.B., 2006. Is carbon within the global terrestrial biosphere becoming more oxidized? Implications for trends in atmospheric O₂. *Global Change Biology* 12, 260–271. doi:10.1111/j.1365-2486.2006.01099.x
- Robroek, B. J. M., Jassey, V. E. J., Kox, M. A. R., Berendsen, R. L., Mills, R. T. E., Cécillon, L., Puissant, J., Meima-Franke, M., Bakker, P. A. H. M. et Bodelier, P. L. E. (2015), Peatland vascular plant functional types affect methane dynamics by altering microbial community structure. *Journal of Ecology* 103, 925–934. doi: 10.1111/1365-2745.12413
- Rees, R.M., Parker, J., 2005. Filtration increases the correlation between water extractable organic carbon and soil microbial activity. *Soil Biology & Biochemistry* 37, 2240–2248. doi:10.1016/j.soilbio.2005.03.024
- Saenger, A., Cécillon, L., Poulénard, J., Bureau, F., De Daniéli, S., Gonzalez, J.-M., Brun, J.-J., 2015. Surveying the carbon pools of mountain soils: A comparison of physical fractionation and Rock-Eval pyrolysis. *Geoderma* 241-242, 279–288. doi:10.1016/j.geoderma.2014.12.001

-
- Saenger, A., Cécillon, L., Sebag, D., Brun, J.-J., 2013. Soil organic carbon quantity, chemistry and thermal stability in a mountainous landscape: A Rock–Eval pyrolysis survey. *Organic Geochemistry* 54, 101–114. doi:10.1016/j.orggeochem.2012.10.008
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I. a., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D. a. C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478, 49–56. doi:10.1038/nature10386
- Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., Denef, K., 2004. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research* 79, 7–31. doi:10.1016/j.still.2004.03.008
- Six, J., Conant, R.T., Paul, E.A., Paustian, K., 2002. Stabilization mechanisms of soil organic matter : Implications for C-saturation of soils. *Plant and Soil* 241, 155–176.
- Sjögersten, S., Alewell, C., Cécillon, L., Hagedorn, F., Jandl, R., Leifeld, J., Martinsen, V., Schindlbacher, A., Sebastian, M.T., Van Mieghroet, H., 2011. Mountain Soils in a Changing Climate - Vulnerability of Carbon Stocks and Ecosystem Feedbacks, in: *Soil Carbon in Sensitive European Ecosystems: From Science to Land Management*. John Wiley and Sons, pp. 118–148. doi:10.1002/9781119970255.ch6
- Sohi, S.P., Mahieu, N., Arah, J.R.M., Powlson, D.S., Madari, B., Gaunt, J.L., 2001. A Procedure for Isolating Soil Organic Matter Fractions Suitable for Modeling. *Soil Science Society of America Journal* 65, 1121–1128.
- Sollins, P., Swanston, C., Kramer, M., 2007. Stabilization and destabilization of soil organic matter—a new focus. *Biogeochemistry* 85, 1–7. doi:10.1007/s10533-007-9099-x
- Stockmann, U., Adams, M. a., Crawford, J.W., Field, D.J., Henakaarchchi, N., Jenkins, M., Minasny, B., McBratney, A.B., Courcelles, V.D.R. De, Singh, K., Wheeler, I., Abbott, L., Angers, D. a., Baldock, J., Bird, M., Brookes, P.C., Chenu, C., Jastrow, J.D., Lal, R., Lehmann, J., O'Donnell, A.G., Parton, W.J., Whitehead, D., Zimmermann, M., 2013. The knowns, known unknowns and unknowns of sequestration of soil organic carbon. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 164, 80–99. doi:10.1016/j.agee.2012.10.001

-
- Toberman, H., Evans, C.D., Freeman, C., Fenner, N., White, M., Emmett, B. a., Artz, R.R.E., 2008. Summer drought effects upon soil and litter extracellular phenol oxidase activity and soluble carbon release in an upland *Calluna* heathland. *Soil Biology & Biochemistry* 40, 1519–1532. doi:10.1016/j.soilbio.2008.01.004
- Torn, M.S., Swanston, C.W., Castanha, C., Trumbore, S.E., 2009. 6. Storage and turnover of organic matter in soil, in: *Biophysico-Chemical Processes Involving Natural Nonliving Organic Matter in Environmental Systems*. doi:10.1002/9780470494950.ch6
- Von Lützow, M., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Flessa, H., Guggenberger, G., Matzner, E., Marschner, B., 2007. SOM fractionation methods: Relevance to functional pools and to stabilization mechanisms. *Soil Biology & Biochemistry* 39, 2183–2207. doi:10.1016/j.soilbio.2007.03.007
- Von Lützow, M., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Matzner, E., Guggenberger, G., Marschner, B., Flessa, H., 2006. Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions - a review. *European Journal of Soil Science* 57, 426–445. doi:10.1111/j.1365-2389.2006.00809.x
- Wang, L., Ouyang, H., Zhou, C.P., Zhang, F., Song, M.H., Tian, Y.Q., 2005. Soil organic matter dynamics along a vertical vegetation gradient in the Gongga Mountain on the Tibetan Plateau. *Journal of Integrative Plant Biology* 47, 411–420. doi:10.1111/j.1744-7909.2005.00085.x
- Yano, Y., McDowell, W.H., Aber, J.D., 2000. Biodegradable dissolved organic carbon in forest soil solution and effects of chronic nitrogen deposition. *Soil Biology & Biochemistry* 32, 1743–1751. doi:DOI: 10.1016/S0038-0717(00)00092-4
- Zsolnay, Á., 2003. Dissolved organic matter: Artefacts, definitions, and functions. *Geoderma* 113, 187–209. doi:10.1016/S0016-7061(02)00361-0

IV. Principaux résultats

Suite au protocole de fractionnement granulo-densimétrique mis en place, nous obtenons quatre fractions de la MOS présentant un degré de stabilité croissant (WEOC, freePOM, occPOM et MAOM, de la fraction la plus labile à la plus stable). Nous avons observé aux deux dates d'échantillonnage :

- Une chimie moyenne différente entre les différentes fractions de MOS qui se traduit par une diminution du ratio C:N des fractions solides les plus labiles (freePOM) à la fraction la plus stable (MAOM). Le plus haut degré de décomposition microbienne de la MOS est atteint dans la fraction MAOM (C:N = 10 ; Fig.39). Le ratio du sol total est plus important (11). De plus, les indicateurs IR mettent en lumière que de nombreuses différences chimiques sont observées entre la fraction freePOM et occPOM.
- Une contribution moyenne au COS total très contrastée entre les fractions. La majorité du COS est contenue dans la fraction MAOM (86 %). La contribution de la matière organique particulaire (POM) au COS total est relativement faible (14 %). Les contributions au COS total de la fraction freePOM et de la fraction occPOM ne sont pas différentes statistiquement (i.e 6% et 8%, respectivement). Enfin, le COS dissout extrait à l'eau froide (WEOC) représente une très faible part du COS total (i.e 0.2 %).

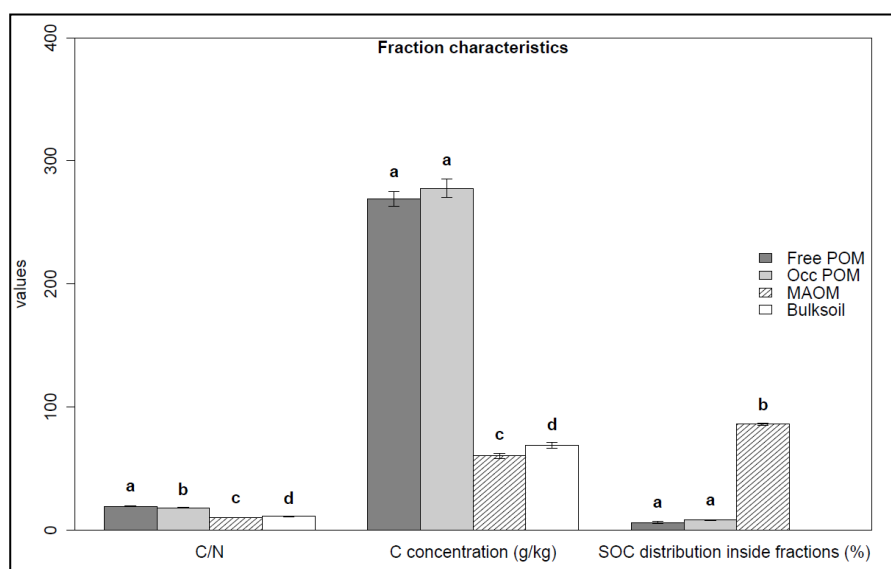


Figure.39 :. Teneur en C, ratio C:N et contribution moyenne (sur 2 saisons) des fractions solides de MOS étudiées. (n = 60). Les barres d'erreur indiquent l'erreur standard.

Au cours du suivi de la quatrième année de manipulation climatique (transplantation de sol) l'effet des conditions climatiques de deux saisons contrastées (hiver/été) sur les fractions de la MOS a été évalué. Les principaux résultats sont :

- Une forte dynamique saisonnière de la contribution des fractions les plus labiles (WEOC et freePOM) au COS total. Ainsi, on remarque que la concentration du WEOC et de la fraction freePOM sont plus importantes en été qu'en hiver. Cet effet saisonnier augmente avec la manipulation climatique et devient significative au site le plus bas (570m).
- La contribution des fractions (occPOM et MAOM) au COS total n'est pas affectée par la dynamique climatique saisonnière.
- Une forte dynamique saisonnière de la chimie des fractions WEOC, freePOM et occPOM est observée. Le degré d'aromaticité de la MO de la fraction WEOC est plus important en été par rapport à la saison hivernale. La MO de la freePOM est moins concentrée en C, moins oxydée ($C=O/SOC$), moins condensée (CI) et moins aromatique ($C=C/SOC$) en été par rapport à l'hiver. De plus le ratio Alkyl-C/Alkyl-O de la freePOM est plus faible en été. La MO de la fraction occPOM est moins concentrée en C, plus hydrophobe (HI), plus condensée (CI) en été par rapport à l'hiver. De plus le ratio Alkyl-C/Alkyl-O de la fraction occPOM est plus élevé en été. La significativité et l'amplitude des réponses observées sur les indicateurs de chimie organique des fractions de MOS dépendent des sites et des indicateurs considérés.

A la suite de quatre années de manipulation climatique (transplantation de sol) visant à réchauffer et assécher le climat moyen annuel on observe :

- Une forte diminution de la concentration en C_{org} du sol total sous l'effet de la manipulation climatique (site intermédiaire (1010m) et site de basse altitude (570m)). Cette tendance devient significative pour les deux sites lors de la dernière date d'échantillonnage (été 2013). Cette diminution de la concentration en COS est couplée à une perte significative en argiles du sol. La manipulation climatique aurait donc

engendré une diminution de la concentration en COS lié aux particules fines du sol (< 2 μm) pour les sites de basse altitude et le site intermédiaire (significatif).

- La fraction la plus stable biogéochimiquement (MAOM) est impactée par la manipulation climatique. En effet, une diminution de la concentration en C_{org} de cette fraction est observée pour le site intermédiaire (1010m) et le site de basse altitude (570m). Cette perte de C_{org} stable peut être reliée au lessivage accru des argiles (processus d'érosion) sous l'effet de la manipulation climatique.
- Contrairement à la tendance observée pour le COS total, la contribution de la freePOM au COS augmente de manière significative sur le site de basse altitude (significatif en été).
- La chimie des fractions WEOC et occPOM n'est pas affectée par la manipulation climatique. Seul un effet significatif de la manipulation climatique est observé sur l'indicateur IR ($C=O/SOC$) en hiver avec une diminution de l'oxydation de la MO de la freePOM sous l'effet du climat simulé. L'indicateur de condensation de la MO (CI) semble également sensible à la manipulation climatique mais n'apparaît jamais de manière significative.
- La manipulation climatique module la différence de chimie observée entre les fractions de MOS freePOM et occPOM. En effet, pour la grande majorité des indices spectroscopiques de chimie organique, la manipulation climatique entraîne une réduction des différences chimiques entre ces deux fractions.

V. Discussion des résultats

Ce deuxième chapitre met en lumière les répercussions engendrées par les changements des conditions climatiques (saisonniers ou manipulation climatique) sur la MOS. Le choix de fractionner la MOS en pools de C stabilisés par des mécanismes différents permet de mieux appréhender les différents effets que peut avoir le climat sur la dynamique du COS. Nos résultats illustrent bien l'hétérogénéité de la MOS, et démontrent la forte dynamique intra-annuelle de certaines fractions de MOS. Le réservoir important de C qu'est la MOS constitue également la ressource énergétique des microorganismes décomposeurs du sol. De ce fait, une modification de sa disponibilité par altération des mécanismes qui la protègent de la minéralisation peut impacter fortement la dynamique du C du sol et l'activité des microorganismes du sol. La sensibilité des pools (labiles, intermédiaires, stables) de la MOS face aux changements des conditions climatiques est aujourd'hui très peu connue et ne fait l'objet d'aucun consensus (Davidson et Janssens, 2006 ; Conant et al., 2011 ; Schmidt et al., 2011). Cette étude complète l'approche centrée sur les microorganismes du sol (chapitre 1) en étudiant les effets du climat sur la dynamique du C sous un autre angle, celui de la ressource énergétique des microorganismes (MOS).

HYPOTHESE II : La quantité et la chimie des différents pools de MOS sont altérées par les conditions climatiques. En raison de l'apport de MO fraîche, la saison estivale est caractérisée par une relative importance des pools les plus labiles. La manipulation climatique induit une dégradation préférentielle des pools de C organiques du sol considérés comme labiles.

1. Un sol de montagne caractérisé par sa richesse en C organique stable (MAOM)

Suite au protocole de fractionnement des MOS mis en place, quatre fractions de la MOS de stabilité croissante ont été obtenues. La fraction plus labile (WEOC), représente en moyenne 0.2 % de la concentration du COS total. La contribution rapportée dans la littérature de la fraction WEOC au COS se situe entre 27 et 428 $\mu\text{g/g}$ de sol sec et représente environ 0.1% du COS total. Nos résultats sont donc en accord avec cette contribution très faible du WEOC au COS. Ces études utilisent la même méthode d'extraction (Rees et Parker, 2005). Malgré cette très faible contribution, les forts taux de renouvellement des composés (4000

fois par an (Boddy et al., 2007) du WEOC en font une fraction extrêmement dynamique et essentielle pour le fonctionnement du sol. Il s'agit du substrat directement disponible pour les communautés microbiennes du sol (Conant et al., 2011).

La contribution des fractions de matières organiques particulières (freePOM et occPOM) au COS est apparue relativement faible comparée aux autres études portant sur des sols d'altitude. En effet les milieux subissant des contraintes climatiques fortes tels que les milieux subalpins stockent généralement de grandes quantités de matière organique sous forme de matière organique particulaire (POM) (Leifeld et al., 2009a et 2009b ; Saenger et al., 2013 et 2015 ; Budge et al., 2010 et/ou 2011a; Martinsen et al., 2011). Saenger et al. (2013) ont étudié la contribution de la POM au COS dans de nombreux écosystèmes du massif du Vercors. La prairie mésique subalpine qui correspond à notre système d'étude montre une contribution de la POM au COS de l'ordre de 38 %. D'autres études ont même montré des contributions de plus de 80 % de la fraction POM au COS total (Budge et al., 2011a ; Leifeld et al., 2009b). Cependant, il s'agit d'écosystèmes situés à plus haute altitude (>2000m). Ces valeurs sont largement inférieures à celles de notre étude. L'hypothèse la plus plausible pour expliquer cette faible contribution de la fraction POM au C du sol pourrait être liée au mode de gestion de la prairie étudiée dans le cadre de cette thèse. Le pâturage bovin en place avant l'expérimentation pourrait avoir limité la quantité de POM par une réduction durable des entrées de MO fraîches au sol (Martinsen et al., 2011).

La contribution de la fraction la plus stable biogéochimiquement (MAOM) au COS s'avère très élevée (86%). La majeure partie du C se retrouve ainsi dans la fraction de densité supérieure à 1.6 g.cm^{-3} ce qui correspond au pool intermédiaire et passif des modèles de dynamique du COS (Von Lützow et al., 2007). La majorité du COS de la prairie subalpine suisse étudiée dans le cadre de cette thèse est donc complexée aux minéraux du sol et présente le degré de décomposition microbienne le plus élevé (faible C/N).

2. Une dynamique saisonnière marquée des pools de C organique les plus labiles

Les changements drastiques des conditions climatiques entre la saison hivernale (manteau neigeux, sol humide et frais) et estivale (sol sec et chaud) impactent fortement le pourcentage de contribution des pools labiles (WEOC et freePOM) au C du sol. Il peut s'agir d'effet direct des conditions climatiques ou indirect via la dynamique végétale et des microorganismes du sol. L'accumulation de freePOM en été pourrait être le reflet de l'entrée

récente de biomasse végétale fraîche (après saison de végétation). L'augmentation de la concentration en WEOC en été pourrait être le reflet de la faible activité enzymatique observée lors de la période estivale (chap.1) et/ou l'effet direct du climat sec qui est connu pour être responsable de l'augmentation du COS extractible à l'eau (Marschner et Bredow, 2002 ; Yano et al., 2000). La chimie de ces fractions de MOS labiles évolue également fortement au cours de l'année. La fraction WEOC présente un degré d'aromaticité significativement plus élevé en été qu'en hiver. Ce résultat semble contre intuitif si l'on se réfère au modèle conceptuel définissant la source principal du WEOC du sol comme étant le compartiment végétal (Fig.40. model a). En effet, en été après apport de matière organique fraîche, l'aromaticité de la fraction WEOC devrait diminuer, indiquant une augmentation de la labilité du WEOC (Kalbitz et al., 2003). Au contraire, nos résultats confirment ceux obtenus par Akagi et Zsolnay (2008) qui suggèrent que l'origine de la fraction WEOC est principalement la MOS. Dans ce modèle, il existe un temps de latence entre l'entrée de MO fraîche et labile dans le sol et sa transmission dans la fraction WEOC.

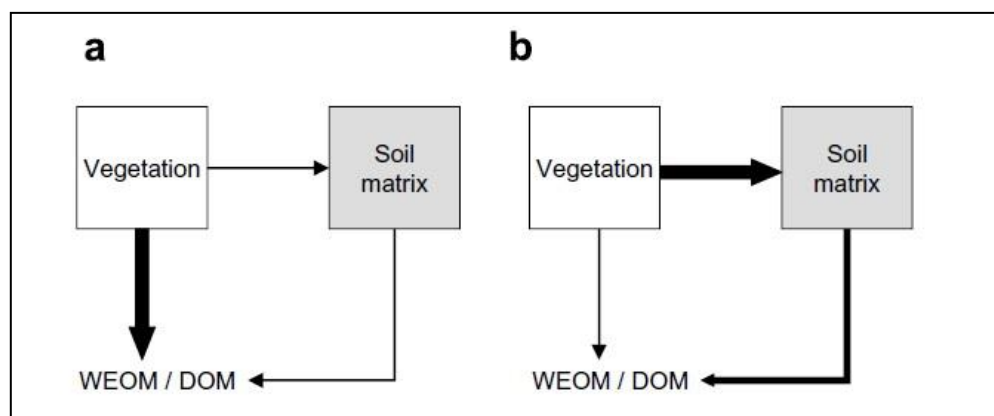


Figure.40 : Modèle conceptuel des flux à l'origine du C organique dissout du sol (WEOC ou DOC). a) Modèle conceptuel représentant un effet direct et dominant du compartiment végétal ; b) Modèle conceptuel représentant un flux modifié suite à une séquestration à travers la matrice du sol. (Akagi et Zsolnay, 2008).

La dynamique de la chimie de la fraction de POM libre (freePOM) se caractérise par un C organique moins oxydé, moins aromatique, et avec un ratio Alkyl-C/Alkyl-O plus faible en été. L'ensemble de ces indicateurs chimiques appuie notre hypothèse d'une augmentation de la contribution de la freePOM au COS en été en raison de l'apport de MO fraîche lié à la

saison de végétation. Le ratio alkyl-C/alkyl-O est un indicateur permettant d'estimer le degré de décomposition de la MOS. Plus le ratio augmente (i.e. la quantité de alkyl-C par rapport au alkyl-O augmente, voir Fig.41), plus la MO atteint un degré de décomposition important. Ainsi la POM libre en été apparaît être dans un avancement de décomposition moins important qu'en hiver. Il est toutefois important de noter que le calcul du ratio alkyl-C/alkyl-O est calculé dans la littérature à partir de données RMN ^{13}C et non à partir de spectres moyen infrarouge. Ainsi, cette différence dans les méthodes utilisées pourrait gêner la comparaison de nos résultats avec la littérature.

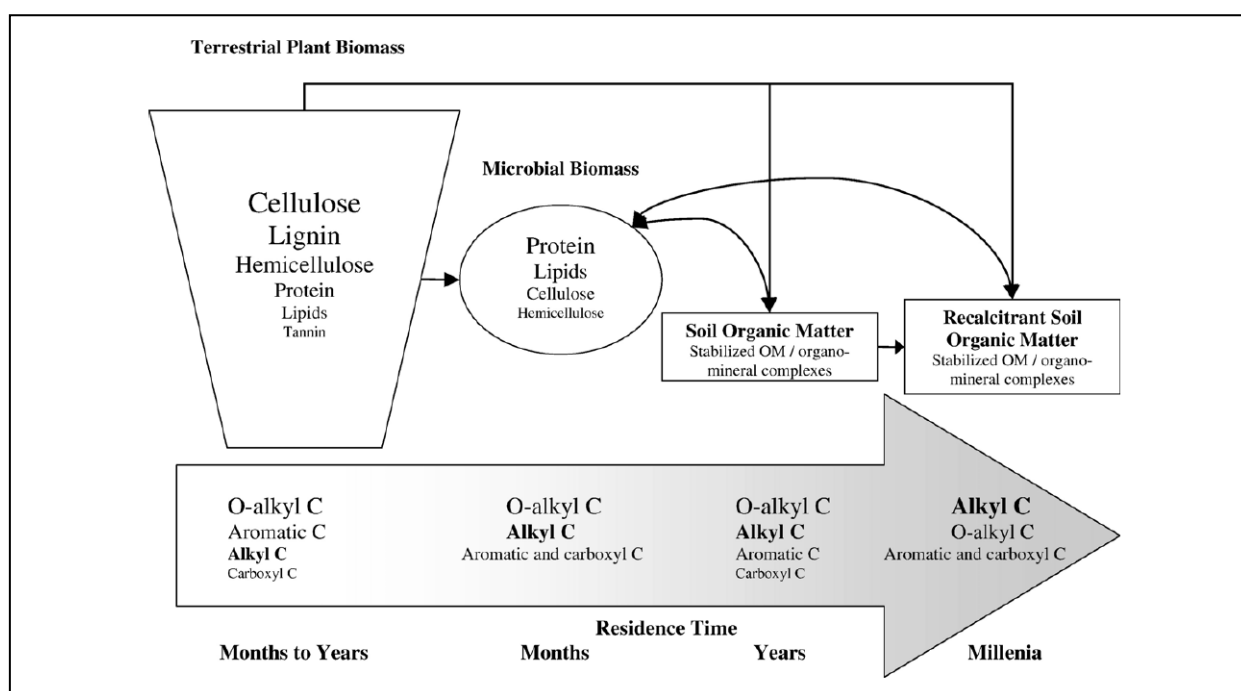


Figure.41 : Flux de la biodégradation de la biomasse terrestre. L'enrichissement en alkyl-C (visible par spectroscopie RMN ^{13}C) durant le processus de décomposition et de stabilisation de la MOS est indiqué sur la flèche grise ainsi que le temps approximatif du C au sein du compartiment végétal, microbien et du sol. (Lorenz et al., 2007).

La contribution des fractions plus stables (occPOM et MAOM) au COS n'est pas affectée par les conditions climatiques saisonnières (été/hiver). Le fait que l'on n'observe pas d'effet de la dynamique saisonnière sur ces fractions tend à confirmer leur plus grande stabilité biogéochimique. Cependant, des différences de composition chimique de la MO emprisonnée au sein des macro-agrégats de sol sont observées entre la saison hivernale et estivale. Les agrégats du sol sont des entités dynamiques avec un taux de renouvellement

moyen de l'ordre du mois (Plante et al., 2002 ; Six et al., 2004). Nos résultats semblent confirmer ce dynamisme de renouvellement des macro-agrégats de sol car la chimie de cette fraction (occPOM) change en fonction de la saison considérée. L'indicateur de condensation (CI) de la MO de la fraction occPOM montre une forte différence entre la saison hivernale et la saison estivale. Il est intéressant de noter que cette tendance est à l'opposé de celle observée pour la fraction freePOM. Ces résultats suggèrent une incorporation de la MO de la fraction freePOM au sein des macro-agrégats sur une période inférieure à l'année.

3. Un fort effet de la manipulation climatique sur le carbone organique stable du sol

L'étude de la dynamique microbienne de décomposition (chapitre 1) n'a pas permis d'expliquer la dynamique du C du sol induite par la manipulation climatique. En effet les activités microbiennes mesurées (activités enzymatiques) n'étaient pas en mesure d'expliquer la diminution de la concentration en COS sous l'effet de la manipulation climatique (site intermédiaire (1010m) et site de basse altitude (570m)). Les résultats de cette étude portant sur les pools de COS permettent de mieux comprendre l'origine de cette diminution de la concentration en C du sol.

Contrairement à notre hypothèse de départ (Hypothèse II), la manipulation climatique n'induit pas une dégradation préférentielle des pools de COS considérés comme labiles. En effet, il s'est avéré que la contribution de la freePOM a augmenté sous l'effet de la manipulation climatique (site de basse altitude, significatif en été). La diminution de la teneur en COS sous l'effet de la manipulation climatique n'est donc pas due à la vulnérabilité face aux conditions climatiques des pools de COS dits labiles. Il est intéressant de constater que la manipulation climatique n'affecte pas directement la chimie des fractions WEOC et occPOM excepté pour la fraction freePOM lors de la saison hivernale. Le fait d'observer une fraction freePOM plus oxydée en hiver sur le site contrôle (1350m) ainsi que plus condensée (CI ; tendance non significative) pourrait être en lien avec les plus fortes activités enzymatiques, notamment celle de la phenoloxydase (oxydase) mesurée sur le site contrôle. En été l'apport de MO fraîche pourrait masquer cet effet. Enfin, bien que la manipulation climatique n'affecte que marginalement la chimie des fractions de MOS, elle a néanmoins un effet indirect. Ainsi, la différence chimique entre les fractions freePOM et occPOM est modulée par la manipulation climatique mise en place. De nombreux indicateurs de spectroscopie IR sont

significativement différents entre ces deux fractions sur le site contrôle (1350m) alors qu'ils ne le sont plus sur le site de basse altitude (570m). La vitesse de renouvellement des macro-agrégats du sol pourrait en être la cause avec un renouvellement plus rapide des agrégats de sol sous l'influence d'un climat favorisant les cycles d'humectation/dessiccation (Denef et al., 2001 ; Marschner et Bredow, 2002).

La MO liée aux minéraux du sol (MAOM) considérée comme la fraction la plus stable à la minéralisation est fortement impactée par la manipulation climatique. La concentration en C organique de la MAOM diminue fortement sous l'effet de la manipulation climatique. De plus, la diminution de la teneur en C organique du sol total et de la fraction MAOM est couplée avec une diminution de la concentration en argiles des sols sous l'effet de la manipulation climatique. Gavazov (2013) a reporté une forte augmentation de la concentration en carbone organique dissout (DOC) sous l'effet de la manipulation climatique (+ 9.9, + 4.2 mg.C par litre pour les sites 570 m et 1010 m par rapport au site contrôle respectivement ; valeurs moyennées de Février 2010 à Janvier 2012 ; Fig.42). Ainsi, plutôt qu'une augmentation de perte de COS stable sous l'effet d'une augmentation de la minéralisation (sensibilité accrue du COS stable à la température ; Conant et al., 2011 ; Lefèvre et al., 2014), l'hypothèse la plus plausible pour expliquer la diminution de la teneur en C organique du sol total serait donc une perte de C organique par lixiviation sous forme de carbone organique dissout (DOC) et lessivage de carbone organique lié aux argiles du sol (MAOM ; processus de lessivage des argiles). Ces résultats rappellent la voie évolutive séquentielle pédologique des formations limoneuses lœssiques de la partie nord de la France (Jamagne, 2011) avec une évolution des calcosols/calcisols vers des brunisols eutriques (décarbonatation / désaturation), puis vers des luvisols (lessivage des argiles).

Les facteurs climatiques responsables de l'augmentation de la lixiviation du DOC et du lessivage des argiles pourraient être multiples dans le cadre de l'expérimentation mise en place. Tipping et al. (1999) ont observé une forte augmentation du DOC lessivé sous l'effet d'un climat simulé plus chaud et plus sec. Un climat plus sec favorise les cycles d'humectation/dessiccation qui engendrent une augmentation du DOC dans les sols (Kalbitz et al., 2000, Hentschel et al., 2007). Dans le cas de notre étude, le climat plus chaud et sec simulé pourrait donc être à l'origine de l'augmentation du DOC lessivé. Gavazov (2013), suggère que l'augmentation du DOC lessivé sous l'effet de la manipulation serait le résultat d'un accroissement des dommages physiques des racines et des cellules microbiennes dues au stress hydrique provoqué lors des périodes sèches. De plus, il a été montré que la couche

neigeuse revêt une grande importance dans la régulation de la quantité de DOC lessivé. En effet, un manteau neigeux non continu sur l'ensemble de la saison hivernale subit plusieurs fontes et augmente de manière significative la quantité de DOC lessivé (Edwards et al., 2007). L'humidité du sol mesurée lors de la quatrième année de l'expérimentation climatique varie brusquement et périodiquement durant la période hivernale sur les sites intermédiaires et surtout sur le site de basse altitude. Ces fortes variations de l'humidité des sols sous l'effet de la manipulation climatique suggèrent des fontes brutales du manteau neigeux qui pourraient augmenter alors la quantité de DOC lessivé. L'effet du climat sur le processus de lessivage des argiles est beaucoup moins documenté. En milieu calcaire, le lessivage des argiles pourrait être associée au processus de décarbonatation et de diminution du taux de cations Ca^{2+} , qui est responsable de la floculation des argiles dans les sols (Gunal et Ransom, 2006). Nous ne disposons toutefois pas de données sur la teneur en Ca^{2+} de nos sols qui pourraient accréditer ou infirmer l'hypothèse d'une défloculation des argiles entraînant leur lessivage sous les deux scénarios de changement climatique. Néanmoins, les résultats à suivre du chapitre 3 montrent un effet de la manipulation climatique sur le processus de décarbonatation, avec une profondeur de décarbonatation plus importante dans sous l'effet de la manipulation climatique (cf. Chapitre 3).

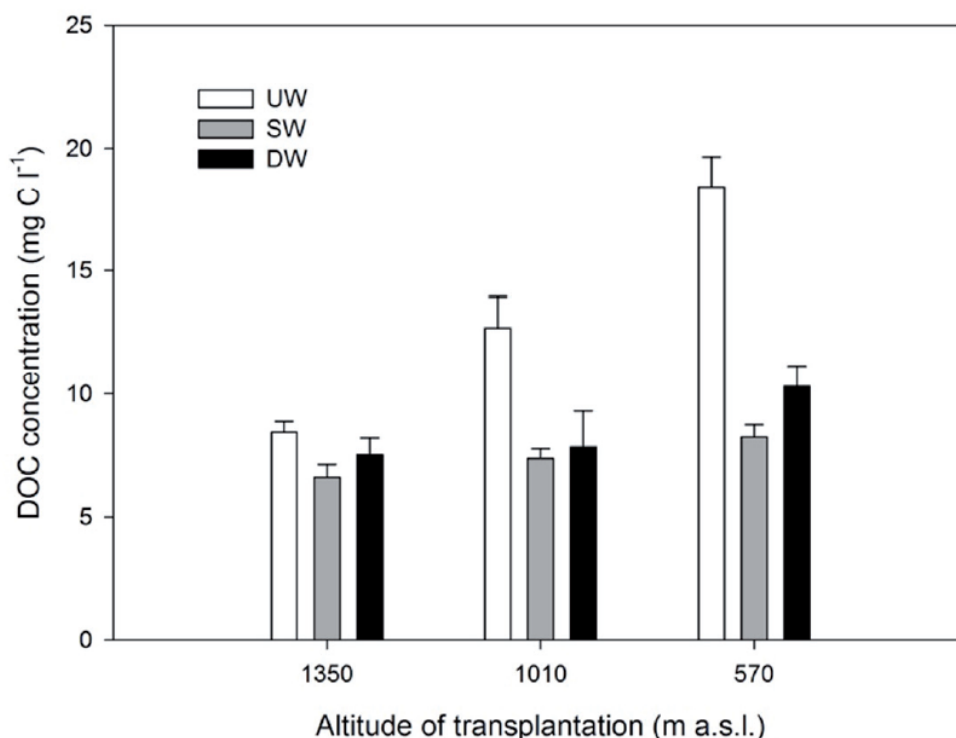


Figure.42 : Concentration en carbone organique dissout (DOC) mesurée dans la solution collectée par les lysimètres pour chaque transplant de sol (5 réplicats ; Gavazov, 2013). UW : prairie ouverte (mode de gestion étudié dans le cadre de la thèse) ; SW : prairie semi-ouverte (40 % d'interception de la lumière par la canopée) ; DW : prairie fermée (80 % d'interception de la lumière par la canopée). Les données correspondent à la moyenne de 18 campagnes d'échantillonnages entre Février 2010 et Janvier 2012.

4. Limites et perspectives de l'étude

La méthodologie mise en place et les outils utilisés lors de cette étude afin de comprendre l'effet des conditions climatiques sur la dynamique des pools de COS ont permis de tirer certaines conclusions mais comme toute démarche expérimentale, notre étude présente certaines limites.

Une première limite peut être attribuée au protocole de fractionnement des MOS permettant d'isoler des pools de COS contrastés en terme de mécanisme de stabilisation et de temps de résidence du COS. En effet, le fractionnement granulo-densimétrique des MOS mis

en place dans cette thèse permet d'obtenir des fractions de MOS correspondant au pool labile (WEOC, freePOM, et dans une moindre mesure la fraction occPOM). Cependant l'ensemble de la MOS correspondant au pool intermédiaire et passif est regroupé au sein de la fraction MAOM (Von Lützow et al., 2007). Cette fraction est donc probablement très hétérogène au regard du turnover de ses composés organiques. Dans la littérature, un deuxième fractionnement de la fraction MAOM est généralement réalisé afin de diminuer l'hétérogénéité de cette fraction. Un protocole de fractionnement granulométrique peut ainsi être appliqué afin de séparer la MAOM liée aux sables de celle liée aux limons et surtout de la MAOM liée aux argiles considérée comme la plus stable (Von Lützow et al., 2007). Une autre solution serait d'appliquer un fractionnement chimique à la fraction MAOM afin d'en isoler des pools de carbone plus ou moins stables (Fig.43). Von Lützow et al., (2007) préconise ainsi la combinaison de l'utilisation d'une première étape de séparation de la MOS par densité suivie d'un fractionnement chimique de la MAOM. Enfin, concernant le protocole de fractionnement physique des MOS mis en place, la quantité d'ultrasons administrés au sol (22j/ml) ne permet pas de casser les micro-agrégats de sol ($< 250 \mu\text{m}$; Leifeld et Kögel-Knabner, 2005 ; Schmidt et al., 1999). Ainsi, notre fraction occPOM contient uniquement la MO emprisonnée au sein des macro-agrégats de sol. Les micro-agrégats de sol se retrouvent alors dans la fraction MAOM. Afin de pouvoir extraire la MO protégée au sein des micro-agrégats de sol, il aurait fallu appliquer une énergie d'au moins 450 j/ml (Schmidt et al., 1999). Cependant, même avec une telle énergie, la destruction des micro-agrégats n'est pas toujours obtenue et dépend du type de sol (Von Lützow et al., 2007).

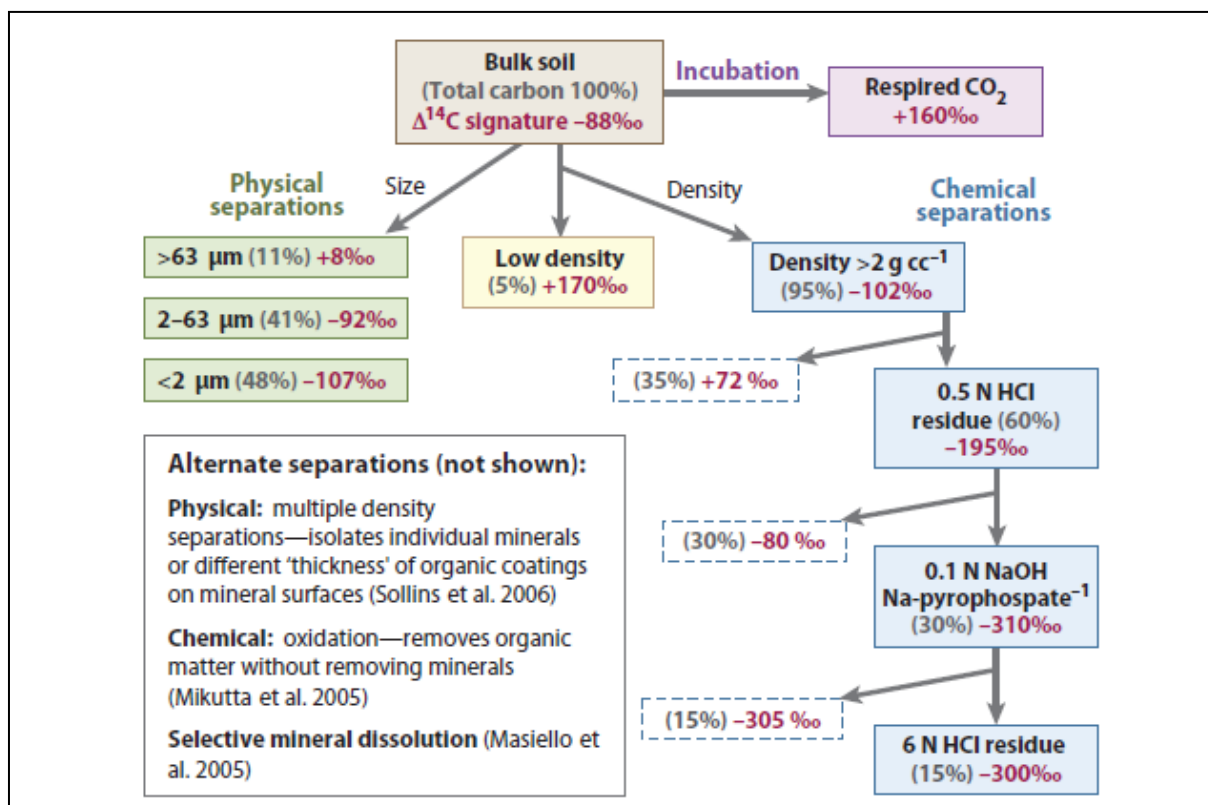


Figure 43. Exemple de changement dans la concentration en ^{14}C (radiocarbone) au sein de différentes fractions de MOS. Plus le delta ^{14}C du C organique de la fraction étudiée est faible, plus le C est âgé. (Trumbore, 2006).

La deuxième limite majeure de cette étude provient des méthodes utilisées pour analyser la chimie des fractions de MOS. Bien que la spectroscopie moyen IR offre une analyse rapide et relativement bien résolue de la structure globale de la chimie de la MOS (principaux groupes fonctionnels du C organique), l'utilisation de cette technique ne permet pas d'étudier la chimie de la fraction MAOM et du sol total, en raison de l'absorption des minéraux dans le domaine des longueurs d'ondes du moyen infrarouge. Un important protocole de déminéralisation à l'aide de HCl et de HF a été mis en place dans le cadre de cette thèse en collaboration avec le laboratoire IPAG (Grenoble), afin de pouvoir étudier la chimie de la MO résiduelle de mélanges organo-minéraux (sol total et MAOM). Malheureusement, les résultats de ce travail ont montré que la chimie de la MO est sensiblement altérée par les traitements HF ou HCl/HF, notamment au niveau du carbone organique insaturé ($\text{C}=\text{C}$; $\text{C}=\text{O}$) et des O-alkyl, rendant caduque toute interprétation des spectres infrarouges de telles fractions de sol (Fig.45). Ce résultat pose question quant à

l'utilisation courante de ce genre de protocoles de déminéralisation avant toute analyse de spectroscopie RMN ^{13}C sur échantillons de sol organo-minéraux. D'autres techniques comme la spectroscopie d'absorption X (NEXAFS) au seuil du C pourraient offrir une alternative pour caractériser la chimie de la MAOM et du sol total. En effet, cette technique de pointe permet de caractériser la chimie organique de mélanges organo-minéraux sans recourir à une étape de déminéralisation. Concernant la fraction WEOC, l'utilisation de la spectroscopie UV permet une caractérisation très grossière de la chimie de la fraction (estimation du degré d'aromaticité). Une méthode plus poussée, telle que la spectroscopie 3D fluorométrique ou de la RMN ^{13}C liquide permettrait une analyse plus fine de la chimie de cette solution. L'absence d'effet de la manipulation climatique observée sur la chimie de cette fraction pourrait être alors remise en cause en analysant d'autres paramètres chimiques plus fins.

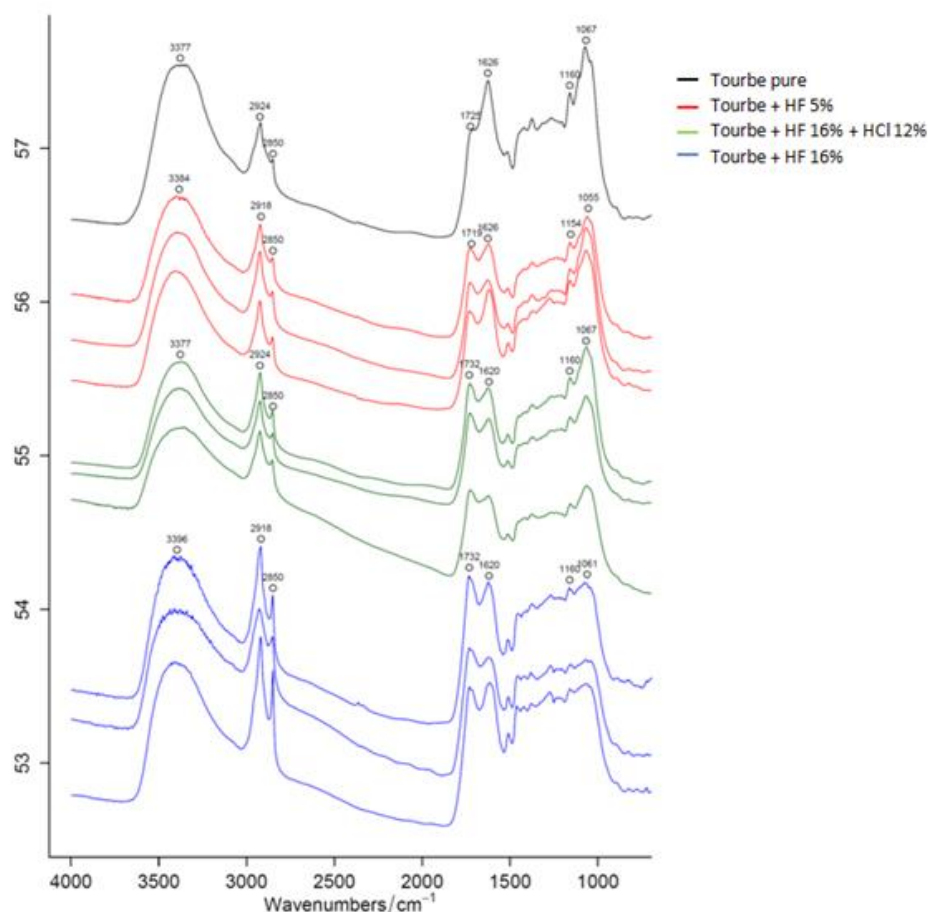


Figure.45 : Effet de l'attaque de solutions acides utilisées habituellement pour la déminéralisation sur la chimie de la MO d'une tourbe.

Une dernière limite de cette étude est l'absence de mesures de teneur en COS et de granulométrie sur les sols des mésocosmes lors de leur mise en place en 2009. Bien que la sélection des sols lors de la construction des mésocosmes ait été randomisée au sein d'une parcelle de prairie subalpine, il reste possible que les sols prélevés n'aient pas eu la même granulométrie et teneur en COS initiale, ce qui pourrait éventuellement expliquer la perte de COS observée sous les deux scénarios de changement climatique. Toutefois, des mesures de COS sur les 4 premiers cm de sol réalisées en 2012 par Mills et al. (2014) sur cette expérimentation n'ont montré aucune différence de teneur en COS entre les sites, renforçant l'hypothèse d'une perte de COS par lixiviation de DOC et du lessivage du COS lié aux particules d'argile. Cette incertitude illustre toutefois l'importance de conserver des échantillons initiaux lors de la mise en place d'expérimentations d'envergure sur plusieurs années.

5. Conclusion

Cette étude a permis de montrer une sensibilité forte à la variabilité climatique intra-annuelle de l'abondance et de la chimie des pools de la MOS considérés comme les plus labiles (WEOC et freePOM). La MOS contenue au sein des macro-agrégats de sols présente une stabilité plus importante car sa contribution au COS ne change pas entre la saison estivale et hivernale. Il est à noter cependant que sa chimie évolue témoignant de l'aspect dynamique de la fraction occPOM au cours de l'année. La dynamique intra-annuelle de ces fractions semble être en lien avec la dynamique annuelle végétale et microbienne du sol. Cependant, il est nécessaire d'étudier les liens statistiques entre l'activité microbienne et ses ressources pour mieux comprendre les effets direct et indirect du climat sur la dynamique de décomposition. Concernant la manipulation climatique, séparer la MOS du sol en différentes fractions fonctionnelles nous a permis de mieux comprendre l'origine de la diminution du COS sous l'effet des changements climatiques imposés. Il s'avère ainsi que la perte en COS observée dans le chapitre 1 de cette thèse provient de la fraction la plus stable (matière organique liée aux minéraux, MAOM), non pas par une minéralisation accrue de cette fraction sous l'effet du changement climatique, mais plus probablement par une augmentation du C organique lessivé (perte de DOC) et par lessivage du carbone complexé aux argiles.

Chapitre 3 : Approche intégrée pour évaluer les effets des conditions climatiques sur la dynamique de décomposition et les stocks de C

I. Introduction

La démarche adoptée dans ce manuscrit de thèse a consisté à étudier dans un premier temps les effets des conditions climatiques sur les agents de décomposition de la MO. Ce fut l'objet du premier chapitre de ce manuscrit qui s'est focalisé sur la réponse de l'activité des communautés microbiennes, leur abondance et leurs structures face aux changements des conditions climatiques. Dans un second temps, nous nous sommes intéressés aux effets engendrés par les changements climatiques sur la MOS, sa protection chimique et environnementale qui définit la disponibilité de cette ressource pour les communautés microbiennes du sol. Ici, dans ce troisième chapitre, deux objectifs sont visés (Fig.46). Le premier a pour but de lier les résultats du premier et du deuxième article afin d'étudier les interactions s'établissant entre les communautés microbiennes et leurs ressources dans un contexte de changement des conditions climatiques. Le deuxième objectif de ce troisième chapitre consiste à faire un bilan des stocks de C_{org} du sol après 5 ans d'expérimentations climatiques et de confronter ces résultats à ceux sur la dynamique du COS étudiée tout au long de cette thèse.

Ce troisième chapitre fait l'objet d'un article rédigé sous la forme d'une « short communication » à soumettre dans le journal « Soil Biology and Biochemistry ». Le titre de cet article est: "Climate manipulation differently influences the drivers of SOC enzymatic decomposition in summer and winter in subalpine mountain grasslands". L'utilisation de modèles à équations structurelles (SEM) permet l'étude des liens de causalité directs et indirects du climat sur la décomposition enzymatique de la MOS. S'ajoutent à cet article des analyses complémentaires permettant de mieux définir l'ensemble des liens existant entre la ressource énergétique des microorganismes du sol (MOS) et les communautés microbiennes proprement dites, à l'échelle saisonnière et annuelle. Il s'agit ainsi de définir au mieux les effets engendrés par les changements des conditions climatiques sur l'activité enzymatique potentielle de décomposition mesurée et d'en comprendre les mécanismes sous-jacents. Le second volet de ce chapitre établit un bilan des stocks de C_{org} des sols transplantés après 5 années de manipulation climatique (transplantation de sol). Les résultats obtenus sur les stocks de C de sol sont discutés dans le cadre de la dynamique de décomposition microbienne étudiée tout au long de cette thèse.

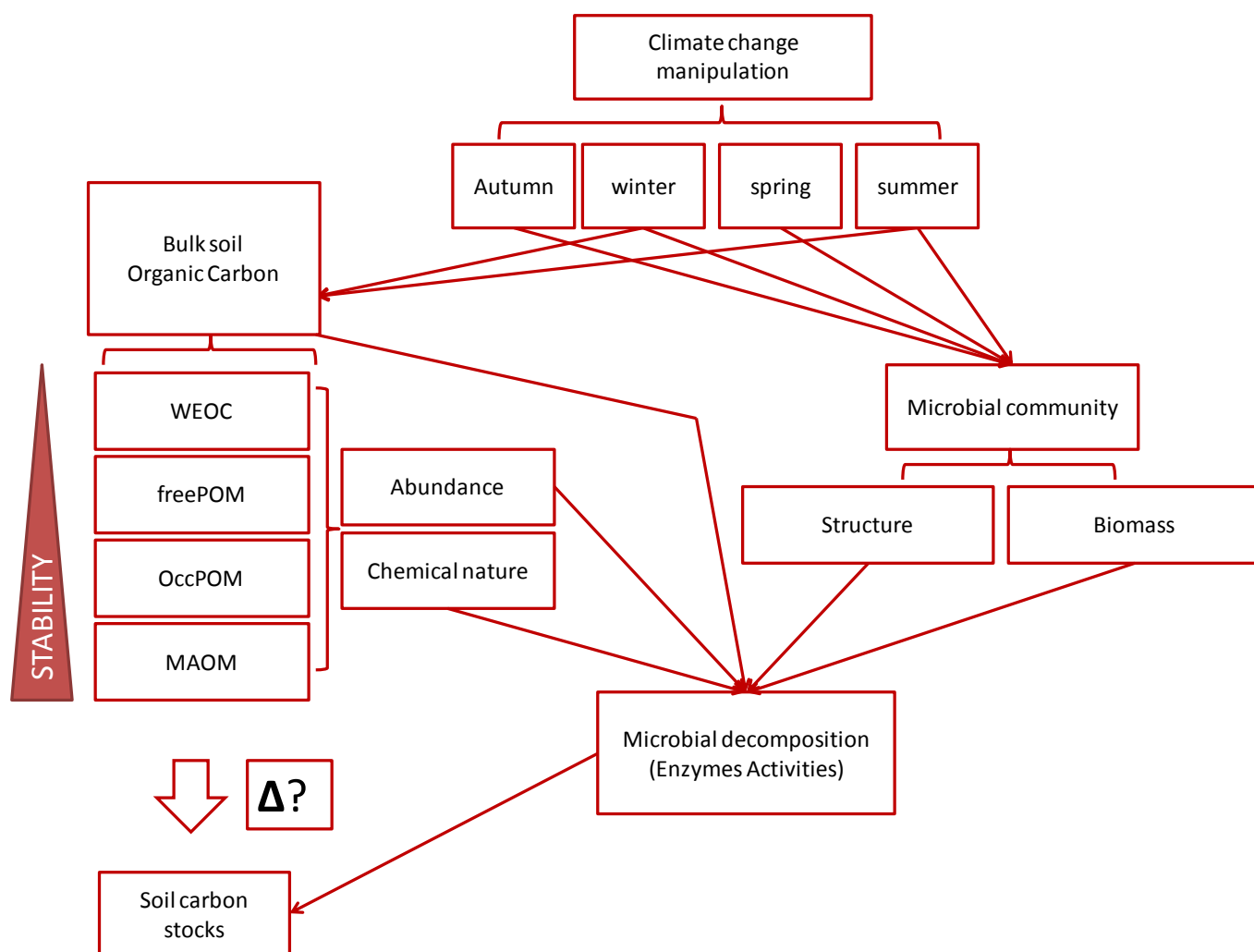


Figure.46 : Schéma de la démarche mise en place durant cette thèse pour l'étude des facteurs contrôlant la dynamique de décomposition des MO du sol. En rouge sont indiqués les éléments et les interactions étudiés dans le chapitre 3. WEOC : carbone organique dissous dans l'eau, représentant la fraction de la MO la plus labile. FreePOM : Matière organique particulaire libre signifiant qu'elle n'est pas protégée de la décomposition par les éléments du sol. OccPOM : Matière organique particulaire protégée au sein des agrégats de sol. Cette fraction est protégée de la décomposition microbienne par protection physique à l'intérieur des agrégats de sol. MAOM : Matière organique associée au compartiment minéral. Cette fraction représente la fraction la plus stable car fortement protégée de la décomposition microbienne grâce aux interactions avec le compartiment minéral.

II. Première partie : Effets des conditions climatiques sur les interactions entre les communautés microbiennes et leurs ressources énergétiques (OM)

1. Contribution scientifique

Climate manipulation differently influences the drivers of SOC enzymatic decomposition in summer and winter in subalpine mountain grasslands

Article à soumettre dans “Soil Biology and Biochemistry”

Jérémy Puissant^{a,b}, Vincent E.J. Jassey^{c,d}, Robert TE Mills^{c,d}, Bjorn JM Robroek^{c,d,e}, Konstantin Gavazov^{c,d}, Sebastien De Danieli^{a,b}, Thomas Spiegelberger^{a,b}, Alexandre Buttler^{c,d,f}, Jean-Jacques Brun^{a,b}, Lauric Cécillon^{a,b}

^aIrstea, UR EMGR Ecosystèmes montagnards, 2 rue de la Papeterie-BP 76, F-38402 Saint Martin d'Hères, France

^bUniv. Grenoble Alpes, F-38402 Grenoble, France

^cEcole Polytechnique Fédérale de Lausanne EPFL, School of Architecture, Civil and Environmental Engineering ENAC, Laboratory of ecological systems ECOS, Station 2, 1015 Lausanne, Switzerland

^dSwiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research WSL, Site Lausanne, Station 2, 1015 Lausanne, Switzerland.

^eEcology and Biodiversity, Institute of Environmental Biology, Utrecht University, Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, The Netherlands

^fLaboratoire de Chrono-Environnement, UMR CNRS 6249, UFR des Sciences et Techniques, 16 route de Gray, Université de Franche-Comté, F-25030 Besançon, France

Corresponding author: Tel.: +33-4-7676-2782;

E-mail address: jeremy.puissant@irstea.fr

Abstract

Climate changes are likely to influence the seasonal response of decompositional processes in soils, modifying key soil services on long term such as climate regulation by soil carbon (C) storage. Using a four-year soil transplantation experiment in Swiss subalpine grasslands, we show that climate changes differentially influence the drivers of soil organic matter (SOM) enzymatic decomposition in winter and summer. Structural equation models (SEMs), including microbial community structure and abundance and the availability and chemistry of different organic matter resources, revealed different seasonal patterns of SOM enzymatic decomposition under climate change. At the summer sampling date, the climate manipulation directly impacted the microbial biomass (MB) which in turn influenced enzymatic decomposition processes. In contrast, at the winter sampling date, we found that the climate manipulation indirectly impacted enzymatic activities by regulating the availability of the water extractable organic carbon fraction (WEOC). SEMs showed that the chemistry of SOM fractions had a limited influence on soil enzymatic activity, except for the chemistry occluded particulate organic matter (POM) fraction at the summer sampling date. Finally, SEMs showed that soil microbial community structure had no impact on SOM enzymatic decomposition process.

Keywords: soil microbial communities; soil enzymes; soil organic matter fractions; infrared spectroscopy; climate change; path analysis

Soils store huge amounts of carbon (C) as soil organic matter (SOM) corresponding to twice or three times as much C as is found in atmosphere or vegetation (IPCC, 2013). Soil microbial communities play a key role in SOM decomposition processes, releasing ca. 60 GtC as respired CO₂ into the atmosphere each year. To decompose SOM, microbial communities release exo-enzymes into the soil, which then accomplish SOM depolymerisation (Burns et al., 2013; Sinsabaugh, 2010). The turnover of SOM in soils ranges from a few seconds to millennia, as SOM can be protected from decomposition by specific mechanisms limiting enzyme-substrate connection. These mechanisms such as SOM occlusion into soil aggregates, SOM chemical recalcitrance or SOM association with the soil mineral matrix can extend the mean residence time of SOM compounds in soils (Mikutta et al., 2006; von Lützow et al., 2006). Global change and more generally climate modifications are expected to strongly

impact the dynamics of microbial communities, organic substrate availability and enzymes kinetics which are the main drivers of SOM enzymatic decomposition (Allison and Vitousek, 2005; Conant et al., 2011b; Davidson and Janssens, 2006). However there is still a marked gap to mechanistically understand how climate change will impact SOM enzymatic decomposition processes. This impedes models to predict the future fate of soils to act as sink or source of CO₂ in a warming world (Bardgett et al., 2008; Conant et al., 2011).

In the European Alps, grassland ecosystems and their associated services such as climate regulation by soil C storage are strongly vulnerable to climate change (Sjögersten et al., 2011). Indeed, these ecosystems store large amounts of C as SOM, a large proportion of which consists of labile C (i.e. poorly processed plant debris) in equilibrium with current climate conditions, that may be rapidly mineralized under climate modifications (Budge et al., 2011; Leifeld et al., 2009; Saenger et al., 2013). Future climate change scenarios for European Alps predict a strong mean annual temperature (MAT) increase coupled with a decrease in snow cover and an increase in the frequency of extreme events such as drought, heat waves and high precipitation (C2SM, 2011 IPCC, 2013). Most of these anticipated climate modifications may have large effect on SOM enzymatic decomposition process in mountain regions that may express differently depending on the season. Indeed, soil microbial community structure and biomass, enzymes and substrate diffusion can be strongly impacted by changes in the duration of the snow cover in winter as well as by more frequent soil drought in summer.

The main objective of this study is to evaluate how climate changes can influence the seasonal patterns of the main drivers of SOM enzymatic decomposition. For the present study, we used data collected in a four-year climate manipulation experiment performed on Swiss subalpine grasslands (Gavazov, 2013). This experiment used space-for-time substitution (see e.g. Blois et al., 2013) to infer the responses of SOM enzymatic decomposition and its drivers to a possible scenario of climate change (increased MAT of +4°C and decreased mean annual precipitation of -40%; Gavazov, 2013). The climate manipulation was achieved by transplanting subalpine (1350 m a.s.l.) grassland soil monoliths at the same altitude (control) or to a lower altitude (570 m a.s.l.; climate manipulation). On the fourth year of the experiment, data on SOM enzymatic decomposition was assessed by quantifying soil enzyme activities, while the potential drivers of SOM decomposition included microbial community abundance and structure and the availability and chemistry of various SOM resources (Table 1). We organized the dataset into a path-relation network subjected to structural equation

modeling (Fig. 1) so as to identify the main seasonal drivers of SOM enzymatic decomposition in subalpine grasslands that may be modified by climate change (see e.g. Grace et al., 2014).

The construction of SEMs started with the integration of climatic variables (soil temperature and moisture). The potential drivers of SOM enzymatic decomposition were then divided into “decomposer variables” (abundance and composition of microbial communities) and “resource variables” such as (i) the abundance of water extractable organic carbon fraction (WEOC), and of free and intra-aggregates particulate organic matter (freePOM and occPOM), and (ii) the chemical composition of SOM fractions estimated by several spectroscopic indices (infrared spectroscopic indices for POM fractions and an ultraviolet spectroscopic index for the WEOC fraction, see Fig.1 and Table 1). The SEMs finally included the pool of C enzymes (Means of β -glucosidases, cellobiohydrolase, xylosidase, lipase and phenol oxidase) and the potential activity of the fluorescein diacetate hydrolase enzymes (FDA) as a global proxy of SOM enzymatic decomposition (Fig. 1 and Table 1). Two categories of SEMs were built: (i) abundance SEMs based on data on the abundance of microbial decomposers and SOM resources; (ii) compositional SEMs based on data on the diversity of microbial decomposers and the chemistry of SOM resources (Fig. 1). SEMs were performed for each sampling date separately including two transplantation sites (seasonal SEMs), and for each site separately, including summer and winter samples (annual SEMs). From the initial conceptual path-relation network (Fig. 1) we identified the key pathways and SOM decomposition drivers by model simplification using step-wise exclusion of variables with non-significant regression weights and covariances until a minimal adequate model was achieved (Milcu et al., 2013). All SEM analyses were conducted using the sem package in R (Fox 2006). Adequate model fit was identified by non-significant χ^2 tests ($P \geq 0.05$), low Akaike Information Criterion (AIC), low Root Mean Square Error of Approximation index ($RMSEA \leq 0.1$), low Standardized Root Mean Square Residual index ($SRMR \leq 0.1$), and high Comparative Fit Index ($CFI \geq 0.90$) (Grace et al. 2014). Due to non-satisfying fit indices, compositional SEMs for the two climatic scenarios (single site/two sampling dates analysis) were not retained.

We found different drivers of SOM enzymatic decomposition in the summer and winter seasonal SEMs (Fig. 2). At the summer sampling date, soil moisture impacted directly the microbial biomass (MB; path = 0.81), which was in turn strongly related to the C enzyme

pool (path = 0.74; Fig. 2.A). In contrast under the snow cover, no effect of soil climate conditions on microbial biomass (MB) was observed but MB was still related to the pool of C enzymes (path = 0.52; Fig. 2.B). At the winter sampling date, C enzymes activities were indirectly related to climate conditions which regulated the availability of the WEOC resource (path = 0.74). This result is in agreement with several studies showing a correlation between microbial activity and abundance with WEOC/DOC content (Marschner and Kalbitz, 2003; Rees and Parker, 2005). In winter, without water limitation and under snow cover, the availability of resource seems to be the limiting factor to SOM enzymatic decomposition as reported by several studies on soil respiration (Brooks et al., 2005; Harrysson Drotz et al., 2009; Öquist and Laudon, 2008). In contrast the WEOC content at the summer sampling date was not related to enzyme activities probably due to the effect of dry soil conditions (Fig. 2.A). Neither the degree of aromaticity of the WEOC fraction, nor the chemistry of the freePOM and occPOM fractions were related to SOM enzymatic decomposition at the winter sampling date (Fig. 2.D). Conversely, the ratio O-Alkyl/ C-Alkyl of the occPOM fraction was positively related to the pool of C enzymes at the summer sampling date (Fig. 2.C). The O-Alkyl/C-alkyl ratio is known to decrease during the biodegradation of plant debris (Lorenz et al., 2007) indicating that C-enzymes activities were higher in aggregates with relatively fresh plant material. When soil moisture is a limiting factor, C-enzyme activities could thus be influenced by the chemistry of SOM in soil aggregates where soil moisture is higher. Interestingly, microbial community composition had no effect on SOM enzymatic composition, as reported by Schnecker et al (2014) using SEM.

The annual SEMs show that climate change shifts the seasonal pattern of the drivers of C-enzyme activities and global SOM enzymatic decomposition. Under the climate manipulation (Fig. 3.A), soil temperature directly impacted the MB, which was strongly related to C enzyme pool activity, while in the control site, soil temperature did not affect soil MB (Fig. 3.B). In addition we found that MB was not related to soil C enzyme potential activities in the control site. Whatever the site, the freePOM resource (considered as a labile organic material) was strongly negatively related to SOM enzymatic decomposition. Our climate change manipulation amplified the summer stress effect, impacting directly the MB that regulates C-enzyme activities.

Overall, our study identified that the direct and indirect drivers of SOM enzymatic decomposition were strongly season-dependent. Annual SEMs also showed that our climate

manipulation experiment modified the actual drivers of SOM enzymatic decomposition, highlighting microbial growth as a limiting factor under climatic stress.

Acknowledgements

This work has been funded by IRSTEA, by the CCES (Competence Center Environment and Sustainability of the ETH Domain, Switzerland) as part of the Mountland project, and supported by a grant from Labex OSUG@2020 (Investissements d'avenir – ANR10 LABX56) and by a grant from the French Ministry of Higher Education and Research (Ph.D. thesis of J. Puissant, EDISCE Doctoral School). BJMR was supported through the Netherlands Organization for Scientific Research (NWO; Research Innovation Scheme 863.10.014).

References

- Allison, S.D., Vitousek, P.M., 2005. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 937–944. doi:10.1016/j.soilbio.2004.09.014
- Bardgett, R.D., Freeman, C., Ostle, N.J., 2008. Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks. *The ISME journal* 2, 805–814. doi:10.1038/ismej.2008.58
- Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology* 37, 911–917.
- Blois, J.L., Williams, J.W., Fitzpatrick, M.C., Jackson, S.T., Ferrier, S., 2013. Space can substitute for time in predicting climate-change effects on biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110, 9374–9.
- Börjesson, G., Sundh, I., Tunlid, A., Svensson, B.H., 1998. Methane oxidation in landfill cover soils, as revealed by potential oxidation measurements and phospholipid fatty acid analyses. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1423–1433.
- Brookes, P.C., Landman, A., Pruden, G., Jenkinson, D.S., 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 17, 837–842.
- Brooks, P.D., McKnight, D., Elder, K., 2005. Carbon limitation of soil respiration under winter snowpacks: Potential feedbacks between growing season and winter carbon fluxes. *Global Change Biology* 11, 231–238. doi:10.1111/j.1365-2486.2004.00877.x
- Budge, K., Leifeld, J., Hiltbrunner, E., Fuhrer, J., 2011. Alpine grassland soils contain large proportion of labile carbon but indicate long turnover times. *Biogeosciences* 8, 1911–1923. doi:10.5194/bg-8-1911-2011
- Burns, R.G., DeForest, J.L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R.L., Stromberger, M.E., Wallenstein, M.D., Weintraub, M.N., Zoppini, A., 2013. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry* 58, 216–234. doi:10.1016/j.soilbio.2012.11.009
- C2SM, 2011. Swiss Climate Change Scenarios CH2011. doi:10.3929/ethz-a-006720559

- Conant, R.T., Ryan, M.G., Ågren, G.I., Birge, H.E., Davidson, E. a., Eliasson, P.E., Evans, S.E., Frey, S.D., Giardina, C.P., Hopkins, F.M., Hyvönen, R., Kirschbaum, M.U.F., Lavallee, J.M., Leifeld, J., Parton, W.J., Megan Steinweg, J., Wallenstein, M.D., Martin Wetterstedt, J.Å., Bradford, M. a., 2011a. Temperature and soil organic matter decomposition rates - synthesis of current knowledge and a way forward. *Global Change Biology* 17, 3392–3404. doi:10.1111/j.1365-2486.2011.02496.x
- Conant, R.T., Ryan, M.G., Ågren, G.I., Birge, H.E., Davidson, E.A., Eliasson, P.E., Evans, S.E., Frey, S.D., Giardina, C.P., Hopkins, F.M., Hyvönen, R., Kirschbaum, M.U.F., Lavallee, J.M., Leifeld, J., Parton, W.J., Megan Steinweg, J., Wallenstein, M.D., Martin Wetterstedt, J.Å., Bradford, M.A., 2011b. Temperature and soil organic matter decomposition rates - synthesis of current knowledge and a way forward. *Global Change Biology* 17, 3392–3404. doi:10.1111/j.1365-2486.2011.02496.x
- Davidson, E. a, Janssens, I. a, 2006. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440, 165–73. doi:10.1038/nature04514
- Floch, C., Alarcon-Gutiérrez, E., Criquet, S., 2007. ABTS assay of phenol oxidase activity in soil. *Journal of microbiological methods* 71, 319–24. doi:10.1016/j.mimet.2007.09.020
- Gavazov, K.S., 2013. Subalpine pasture-woodlands in a changing climate: The role of land use type in ecosystem resistance to simulated climate change. Thesis EPFL 5989. Lausanne, Switzerland.
- Grace, J.B., Adler, P.B., Stanley Harpole, W., Borer, E.T., Seabloom, E.W., 2014. Causal networks clarify productivity-richness interrelations, bivariate plots do not. *Functional Ecology*.
- Green, V.S., Stott, D.E., Diack, M., 2006. Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 693–701. doi:10.1016/j.soilbio.2005.06.020
- Harrysson Drotz, S., Tilston, E.L., Sparrman, T., Schleucher, J., Nilsson, M., Öquist, M.G., 2009. Contributions of matric and osmotic potentials to the unfrozen water content of frozen soils. *Geoderma* 148, 392–398. doi:10.1016/j.geoderma.2008.11.007
- IPCC, 2013. Intergovernmental Panel on Climate Change. *Climate Change 2013 : The Physical Science Basis*. IPCC Working Group I Contribution to AR5

- Kalbitz, K., Schmerwitz, J., Schwesig, D., Matzner, E., 2003. Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties. *Geoderma* 113, 273–291.
doi:10.1016/S0016-7061(02)00365-8
- Leifeld, J., Fuhrer, J., 2009. Long-term management effects on soil organic matter in two cold, high-elevation grasslands: clues from fractionation and radiocarbon dating. *European Journal of Soil Science* 60, 230–239. doi:10.1111/j.1365-2389.2008.01111.x
- Leifeld, J., Kögel-Knabner, I., 2005. Soil organic matter fractions as early indicators for carbon stock changes under different land-use? *Geoderma* 124, 143–155.
doi:10.1016/j.geoderma.2004.04.009
- Leifeld, J., Zimmermann, M., Fuhrer, J., Conen, F., 2009. Storage and turnover of carbon in grassland soils along an elevation gradient in the Swiss Alps. *Global Change Biology* 15, 668–679. doi:10.1111/j.1365-2486.2008.01782.x
- Lorenz, K., Lal, R., Preston, C.M., Nierop, K.G.J., 2007. Strengthening the soil organic carbon pool by increasing contributions from recalcitrant aliphatic bio(macro)molecules. *Geoderma* 142, 1–10. doi:10.1016/j.geoderma.2007.07.013
- Marschner, B., Kalbitz, K., 2003. Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma* 113, 211–235. doi:10.1016/S0016-7061(02)00362-2
- Marx, M., Wood, M., Jarvis, S., 2001. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1633–1640.
- Mikutta, R., Kleber, M., Torn, M.S., Jahn, R., 2006. Stabilization of Soil Organic Matter: Association with Minerals or Chemical Recalcitrance? *Biogeochemistry* 77, 25–56.
doi:10.1007/s10533-005-0712-6
- Milcu, A., Allan, E., Roscher, C., Jenkins, T., Meyer, S.T., Flynn, D., Bessler, H., Buscot, F., Engels, C., Gubsch, M., Kö Nig, S., Lipowsky, A., Loranger, J., Renker, C., Scherber, C., Schmid, B., Thébault, E., Wubet, T., Weisser, W.W., Scheu, S., Eisenhauer, N., 2013. Functionally and phylogenetically diverse plant communities key to soil biota. *Ecology* 94, 1878–1885.

- Öquist, M.G., Laudon, H., 2008. Winter soil frost conditions in boreal forests control growing season soil CO₂ concentration and its atmospheric exchange. *Global Change Biology* 14, 2839–2847. doi:10.1111/j.1365-2486.2008.01669.x
- Pengerud, A., Cécillon, L., Johnsen, L.K., Rasse, D.P., Strand, L.T., 2013. Permafrost Distribution Drives Soil Organic Matter Stability in a Subarctic Palsa Peatland. *Ecosystems* 16, 934–947. doi:10.1007/s10021-013-9652-5
- Puissant, J., Cécillon, L., Mills, R.T.E., Robroek, B.J.M., Gavazov, K., De Danieli, S., Spiegelberger, T., Buttler, A., Brun, J.-J., 2015. Seasonal influence of climate manipulation on microbial community structure and function in mountain soils. *Soil Biology and Biochemistry* 80, 296–305. doi:10.1016/j.soilbio.2014.10.013
- Rees, R.M., Parker, J., 2005. Filtration increases the correlation between water extractable organic carbon and soil microbial activity. *Soil Biology & Biochemistry* 37, 2240–2248. doi:10.1016/j.soilbio.2005.03.024
- Robroek, B. J. M., Jassey, V. E. J., Kox, M. A. R., Berendsen, R. L., Mills, R. T. E., Cécillon, L., Puissant, J., Meima-Franke, M., Bakker, P. A. H. M., Bodelier, P. L. E. (2015), Peatland vascular plant functional types affect methane dynamics by altering microbial community structure. *Journal of Ecology*, 103: 925–934. doi: 10.1111/1365-2745.12413
- Saenger, A., Cécillon, L., Sebag, D., Brun, J.-J., 2013. Soil organic carbon quantity, chemistry and thermal stability in a mountainous landscape: A Rock–Eval pyrolysis survey. *Organic Geochemistry* 54, 101–114. doi:10.1016/j.orggeochem.2012.10.008
- Sinsabaugh, R.L., 2010. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 391–404. doi:10.1016/j.soilbio.2009.10.014
- Sjögersten, S., Alewell, C., Cécillon, L., Hagedorn, F., Jandl, R., Leifeld, J., Martinsen, V., Schindlbacher, A., Sebastian, M.T., Van Miegroet, H., 2011. Mountain Soils in a Changing Climate - Vulnerability of Carbon Stocks and Ecosystem Feedbacks, in: *Soil Carbon in Sensitive European Ecosystems: From Science to Land Management*. John Wiley and Sons, pp. 118–148. doi:10.1002/9781119970255.ch6
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*. doi:10.1016/0038-0717(87)90052-6

- Von Lützow, M., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Matzner, E., Guggenberger, G., Marschner, B., Flessa, H., 2006. Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions - a review. *European Journal of Soil Science* 57, 426–445. doi:10.1111/j.1365-2389.2006.00809.x
- Zimmermann, M., Meir, P., Bird, M.I., Malhi, Y., Ccahuana, J., 2009. Climate dependence of heterotrophic soil respiration from a soil-translocation experiment along a 3000 m tropical forest altitudinal gradient. *European Journal of Soil Science* 60, 1–12. doi:10.1007/s10533-010-9562-y
- Zsolnay, Á., 2003. Dissolved organic matter: Artefacts, definitions, and functions. *Geoderma* 113, 187–209. doi:10.1016/S0016-7061(02)00361-0

Measurements	Name used in SEMs	Ecological function	Methods	Sources
Soil moisture	Soil moisture	Climatic variables	Gravimetric soil water content	NF ISO 16586 (2003)
Soil temperature	Soil temperature		Em50 data-loggers	
Microbial Biomass	MB	Abundance of decomposer community	Chloroform fumigation extraction	Brookes et al., 1985; Vance et al., 1987
Soil enzymes activities				
- Cellobiohydrolase - β -glucosidases - xylosidase - cellobiohydrolase - phenol oxidase	C-enzymes	Enzyme decomposers activity of C-substrate OM	- Fluorogenic methods using 4-MUB (4-methylumbelliferone) - Oxidation of ABTS (2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) for phenol oxidase	- According to Marx et al. (2001) with small modifications - Floch et al., 2007)
Hydrolysis of fluorescein diacetate	FDA	Global activvity of decomposer community	Hydrolysis of fluorescein diacetate (FDA)	Green et al., 2006
PLFA	MCS1 and MCS2	Structure of decomposer population	Microbial phospholipid fatty acid (PLFA) composition	According to Bligh and Dyer (1959) and modified by Börjesson et al. (1998)
Soil organic matter fractions (ressources)				
Water extrable organic carbon (WEOC)	WEOC	Substrate already available for decomposer	Water extraction filtered at 0,45 μ m	Zsolnay et al (2003) with small modifications
free Particulate Organic Matter (freePOM)	freePOM	Labile pool of OM	Density fractionation (1,6 g.cm-3)	
Occluded Particulate Organic Matter	occPOM	Labile pool of OM but protected by soil macro-aggegates	Density fractionation and macro-aggregates disruption with ultra-sonication (22 J.mL-1)	Leifeld et al. (2005, 2009) and Zimmerman et al. (2009)
Ultraviolet absorbance of WEOC et 280 nm	UV280	WEOC Aromaticity esimating its biodegradability	Ultraviolet (UV) spectroscopy at 280 nm	Kalbitz et al., 2003
Partriculate Orgnaic Matter Infrared Red spectroscopy index				
- O-alkyl/C-alkyl - Hydrophobicity Index - Index of oxidation - Aromaticity index - Maturation index - Polysaccharide content - Condensation index	O-alkyl/C-alkyl or POM IR index when not significant	POM Chemsitry esimating its biodegradability	Mid-infrared (MIR) spectroscopy	Pengerud et al (2013) and Robroek et al. (2015)

Table.1: Variables used for SEMs.

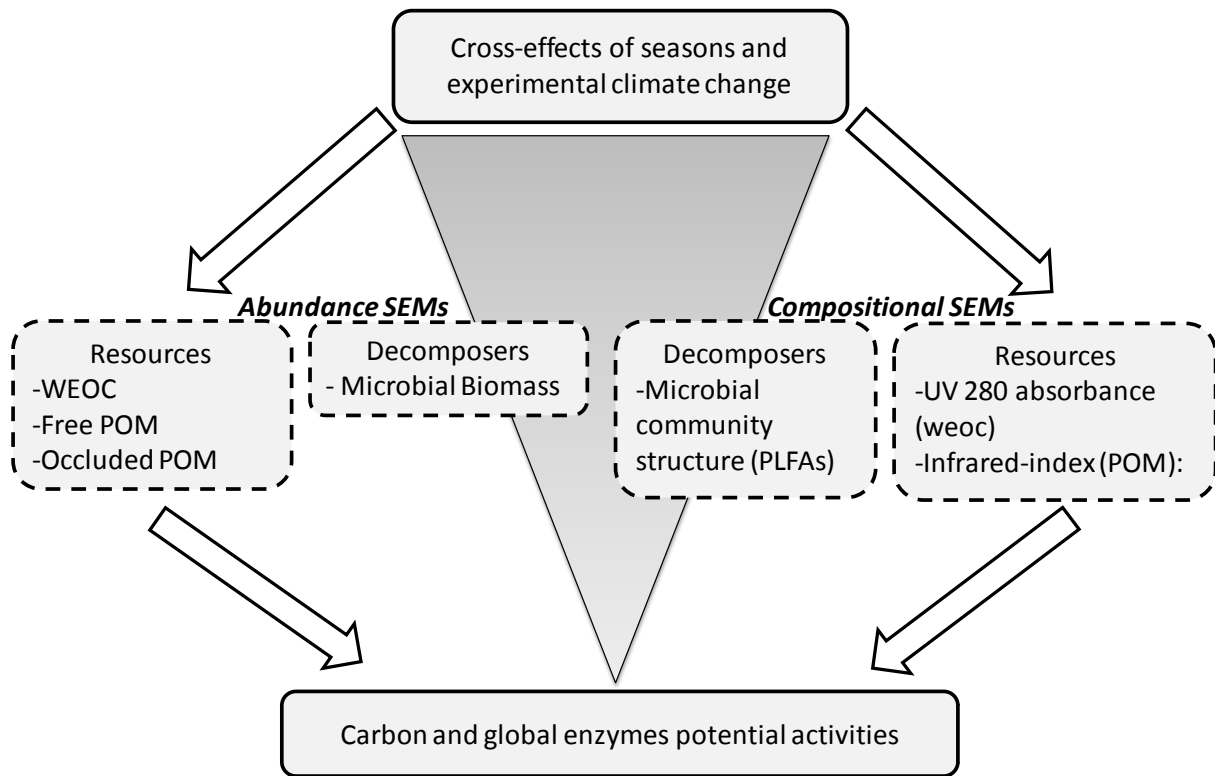
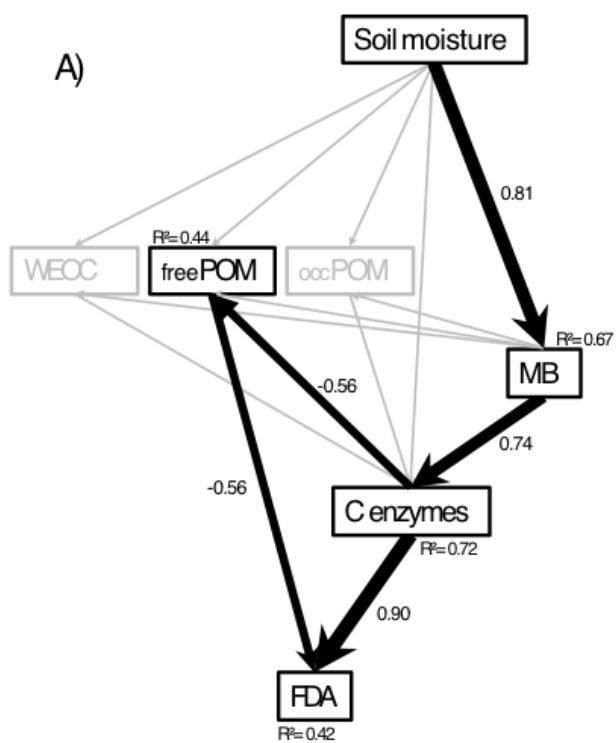
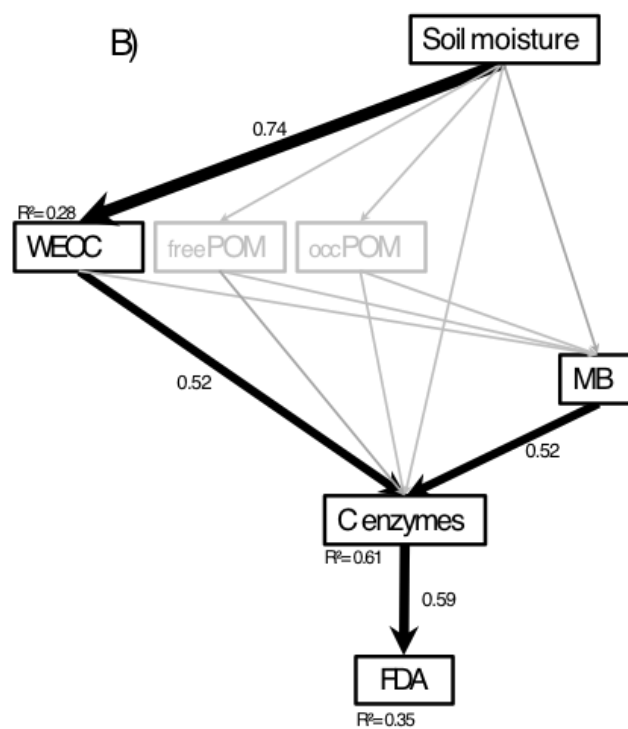


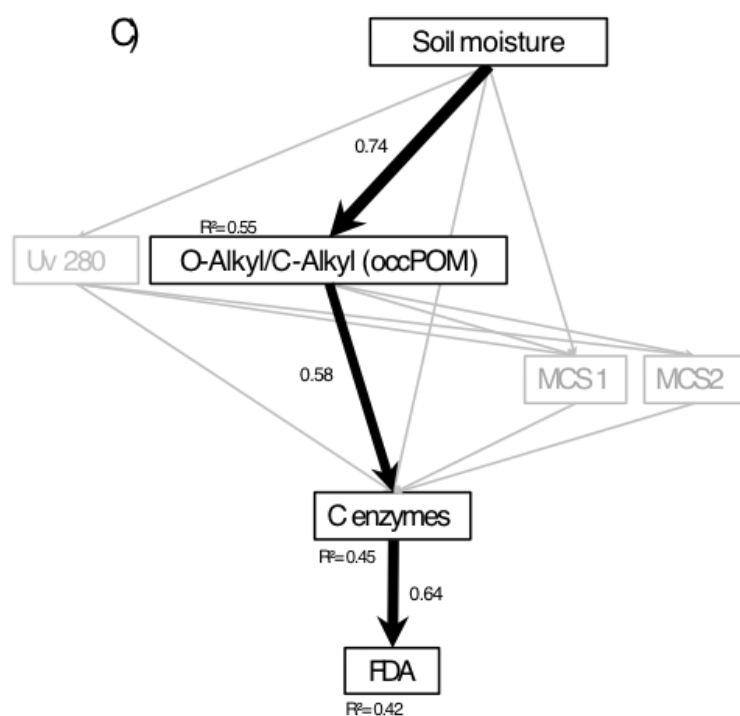
Fig. 1: Conceptual scheme of SEMs built in this study identifying direct and indirect drivers of SOM. Grey arrow indicates direct effects of climate conditions on soil enzymes activities (C and FDA) through effects on microbial decomposers (MB and MCS). White arrows indicate indirect effects of climate conditions on soil enzymes activities (C and FDA) through effects on SOM resources (abundance, lability and chemistry). Carbon enzyme activities correspond to the mean of five enzymes activities (β -glucosidase, Cellobiohydrolase, xylosidase, lipase, phenol oxidase) and global potential activities to fluorescein diacetate hydrolysis (FDA) (see Table1).



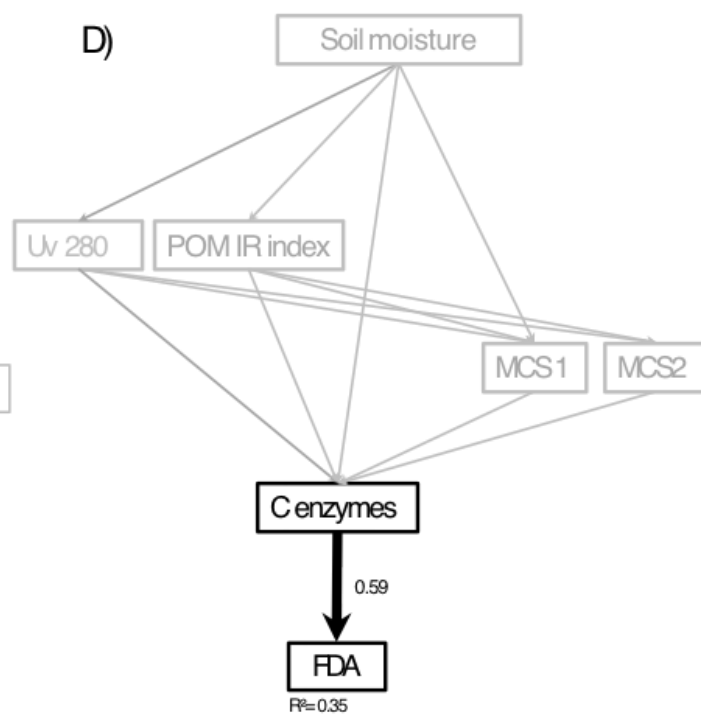
Summer 2013



Winter 2013



Summer 2013



Winter 2013

Fig. 2: Seasonal SEMs representing the climate effects on direct and indirect drivers of SOM enzymatic decomposition. A) Summer abundance SEM, B) Winter abundance SEM, C) Summer compositional SEM, D) Winter compositional SEM. Black boxes and arrows indicate significant factors and paths. The boxes and arrows in grey were not significant and were removed from the models. The numbers written beside arrows as the arrow width indicates the strength of the effect. MCS1 and MCS2 in quality model correspond to the microbial community structure (PCA axes of PLFAs data see Puissant et al, 2015a).

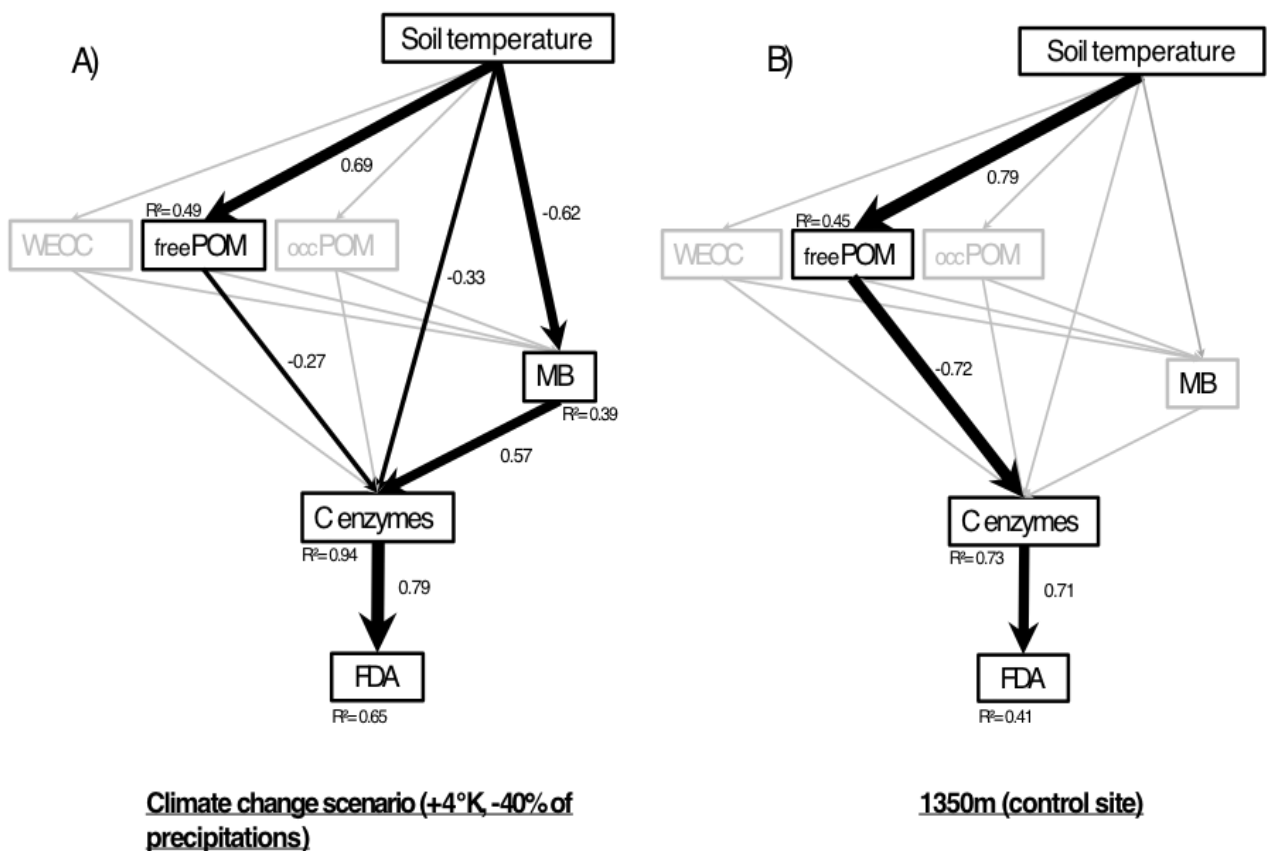


Fig. 3: Annual SEMs representing the effect of the climate manipulation on the seasonal patterns of the drivers of SOM enzymatic decomposition. A) Abundance SEM for the climate change scenario, B) Abundance SEM for the control climate scenario. Black boxes and arrows indicate significant factors and paths. The boxes and arrows in grey were not significant and were removed from the models. The numbers written beside arrows as the arrow width indicates the strength of the effect.

2. Résultats complémentaires sur les interactions communautés microbiennes/ressources au sein de l'expérimentation de changement climatique

2.1. Introduction

Afin de compléter les analyses réalisées dans le cadre de l'article précédent (short communication), des analyses statistiques complémentaires ont été réalisées. Ces analyses permettent d'inclure les données qui n'ont pas été traitées lors de l'utilisation des modèles par équations structurelles (site intermédiaire et données d'automne et du printemps).

2.2. Méthodes statistiques utilisées

Les effets annuels de l'abondance et de la chimie des fractions organiques de sol sur les activités enzymatiques (FDA, C, N, P) ont été testés à l'aide de modèles linéaires mixtes. La variable fixe étant la variable ressource sélectionnée et la variable aléatoire correspond au lysimètre échantillonné. Pour chaque saison (été et hiver), des modèles linéaires permettent d'évaluer les effets de la chimie et de l'abondance des fractions organiques sur les activités de décompositions enzymatiques. La normalité et l'homoscédasticité des résidus ont été vérifiés visuellement. Afin d'extraire et de créer des variables infra-rouges résumant l'information de la variabilité entre lysimètres, des analyses en composantes principales (ACP) ont été réalisées sur les spectres du bulksoil des quatre saisons étudiées (automne, hiver, printemps, été). Enfin, un modèle linéaire mixte a été construit pour sélectionner les variables permettant d'expliquer la variabilité annuelle de l'activité globale de décomposition (FDA). Le meilleur modèle a été sélectionné selon les scores des critères d'information AIC et BIC. Trois groupes de variables explicatives étaient disponibles avec (i) les variables environnementales (température, humidité, signature globale IR, pH, CEC, WEOC content), (ii) les variables ressources (WEOC, freePOM, occPOM) et (iii) les variables microbiennes (MB, MCS1, MCS2). L'ensemble des analyses a été réalisé à l'aide du logiciel R 2.14.0 (R Development Core Team, 2011).

2.3. Résultats

2.3.1. Liens ressources et décomposition microbienne pour les saisons été-hiver

En hiver les résultats des modèles linéaires (Table.5) indiquent que la concentration en WEOC influence positivement l'activité enzymatique (FDA et N). Plus la concentration en WEOC est importante, plus l'activité enzymatique est importante. Ces résultats sont concordants avec les résultats obtenus par une approche statistique différente (voir, article 3). En revanche, en été, la fraction WEOC n'est pas reliée à l'activité enzymatique. La matière organique emprisonnée au sein des macro-agrégats de sol (occPOM) influence significativement et positivement, l'activité de plusieurs enzymes (FDA, C, P). L'effet de la fraction occPOM sur l'activité enzymatique en été est associé avec un effet des caractéristiques chimiques de cette fraction. En effet, le degré d'hydrophobicité et d'oxydation estimé par spectroscopie infrarouge influence négativement cette activité au contraire de l'indice d'aromaticité et de maturation de la MO (voir article 2 pour les indices IR). De plus, en été, l'abondance de la ressource freePOM est inversement reliée à l'activité enzymatique du C. La chimie de la freePOM est reliée significativement et de manière positive à l'activité enzymatique lorsque la concentration en polysaccharides est plus importante (FDA, C, P).

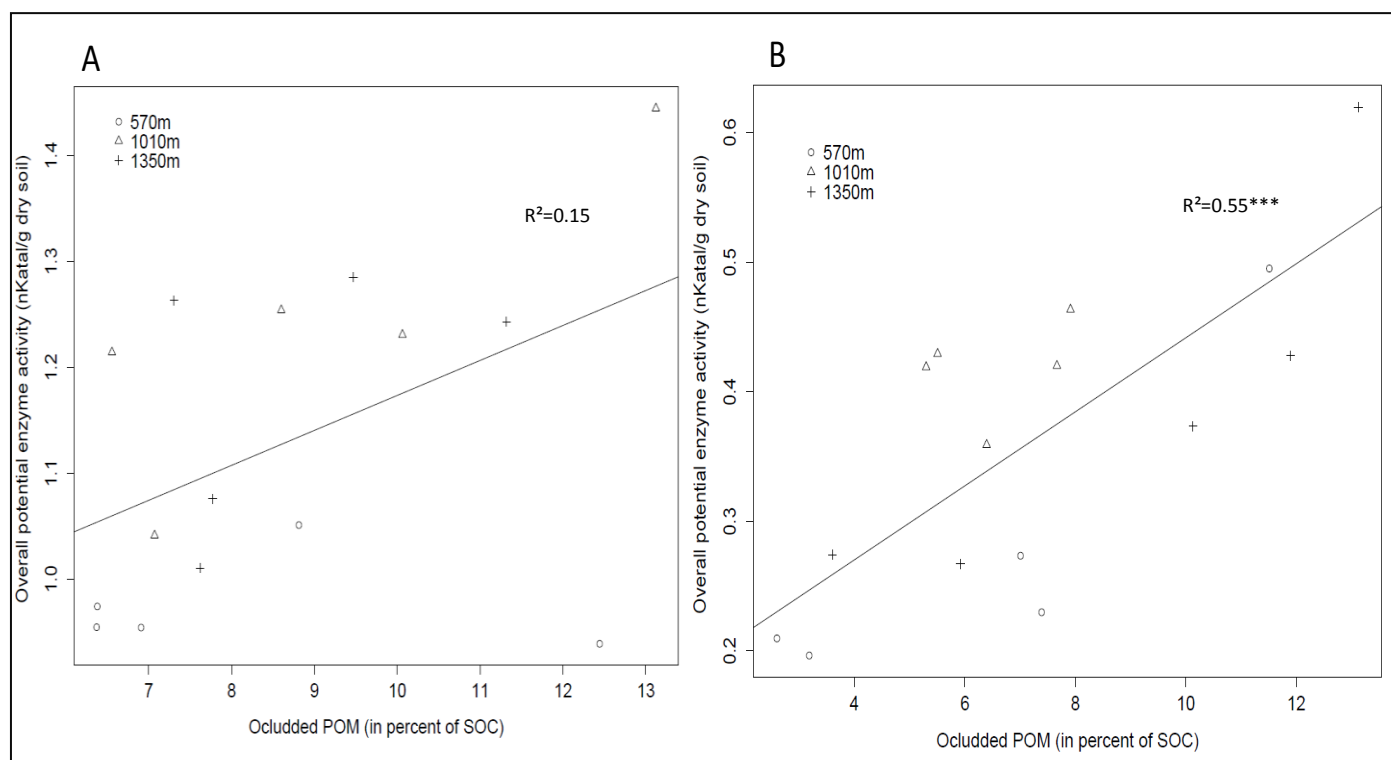


Figure.47 : Lien entre activité enzymatique globale potentielle (FDA) et la quantité de MO contenue au sein des macro-agrégats de sol. A) Régression linéaire pour la saison hivernale (non-significative), B) Régression linéaire pour la saison estivale (significative, p -value < 0.001)

2.3.2. Dynamique intra-annuelle (hiver vs été)

La variabilité intra-annuelle (été/hiver) montre que seule la quantité de la fraction occPOM a un impact significatif et positif sur les activités enzymatiques (FDA et N) (Tableau.5). L'abondance des autres fractions (WEOC et freePOM) considérées comme les plus labiles est inversement reliée à l'activité enzymatique (FDA, C, N et P pour la fraction freePOM). Le degré d'aromaticité de la fraction WEOC estimé par l'indice UV280 à un effet significatif. Plus le degré de la solution WEOC augmente moins les activités enzymatiques (FDA, C, N, P) sont importantes. La chimie des fractions freePOM et occPOM a un effet significatif sur les activités enzymatiques entre les saisons. Pour la fraction freePOM, les indices d'oxydation et de condensation impactent positivement les activités enzymatiques mesurées. Concernant la MO protégée par les macros agrégats de sol (occPOM), le ratio C-alkyl/O-Alkyl, l'indice

d'hydrophobicité ainsi que celui de condensation de la MO influence négativement les activités enzymatiques.

SOM fractions/EEA	winter				summer				annual			
	FDA	C	N	P	FDA	C	N	P	FDA	C	N	P
UV 280 absorbance									-	-	-	-
WEOC content	+		+						-	-		-
Free POM (percent of SOC)					-				-	-	-	-
Occluded POM (percent of SOC)					+	+		+	+			
Soil organic carbon content			+				+				+	
Free POM C/N												
Occ POM C/N											+	+
Bulk soil C/N									-	+		-
MAOM C/N												
IR indicators (FreePOM)												
C_alkyl/O_alkyl		-	+		-		-		+			+
hydrophobicity Index									+			
Index of oxidation	+							+	+	+	+	+
aromaticity index						+	+					
maturation index									-	-	-	
polysaccharide content			-		+	+		+				
condensation index									+		+	+
IR indicators (OccPOM)												
C_alkyl/O_alkyl						-	-		-	-	-	-
hydrophobicity Index		-			-		-		-	-	-	-
Index of oxidation					-		-					
aromaticity index			-		+	+	+				+	
maturation index	+	-			+	+	+				+	
polysaccharide content	-								-	-		
condensation index			+						-	-	-	-

Tableau.5: Effets des conditions climatiques sur les liens entre activités enzymatiques et fractions organiques de sol. FDA pour activité globale enzymatique, C, N, P pour les enzymes liées à la décomposition du carbone de l'azote et du phosphore respectivement. Le symbole + représente une relation positive et le signe - une relation négative. Les résultats sont issus de modèles linéaires cherchant à expliquer l'activité enzymatique par la chimie ou la

quantité des fractions de MO du sol. Seuls les résultats significatifs sont reportés dans ce tableau.

2.3.2. Quelles variables permettent de prédire l'activité enzymatique globale annuelle (automne-hiver-printemps-été)

Suite à la construction de modèles prédictifs de l'activité enzymatique globale (FDA) (voir modèles), plusieurs observations sont à noter. A l'échelle de l'année, le meilleur modèle sélectionné inclut la variable climatique (humidité du sol) et deux variables de spectroscopie infrarouge du sol total intitulées IR3 et IR4 et correspondant aux axes de l'ACP réalisée sur l'ensemble des longueurs d'ondes spectrales. En observant la Figure 49-B, on constate que l'humidité du sol est très significativement corrélée ($R=0.63$, $p\text{-value} < 0.001$) à la FDA au cours de l'année. Cependant, les données correspondant à la saison automnale ont un comportement différent et l'humidité n'est pas dans ce cas corrélée à l'humidité du sol ($R=-0.34$, $p\text{-value} = 0.21$). Sans les données d'automne, la corrélation entre l'humidité du sol (0-10cm) et l'activité enzymatique globale (FDA) est de ($R=0.94$, $p\text{-value} < 0.001$). La variance du signal spectral IR total du sol indique une discrimination des données de l'automne comparées aux autres saisons (Fig.48). Suite à l'analyse en composante principales (ACP) réalisée sur les données de spectroscopie infrarouge du sol total, on constate que les échantillons de sol de l'automne présentent une chimie différente comparée aux autres saisons (Fig.48). L'étude du poids de chaque variable portée par les axes 3 et 4 de l'ACP (loadings) ne permet pas de discriminer les composés minéraux et organiques. Cependant, on constate que l'axe 4 porte deux pics typiques des liaisons Al-Al-OH indiquant la présence d'argiles de type Kaolinite ou smectite. Le modèle sélectionné permettant d'expliquer au mieux l'activité globale de décomposition microbienne au cours de l'année inclut une variable climatique (humidité du sol) mais aussi des variables chimiques de la nature du sol permettant de mieux prédire l'activité pour certaines saisons (automne notamment).

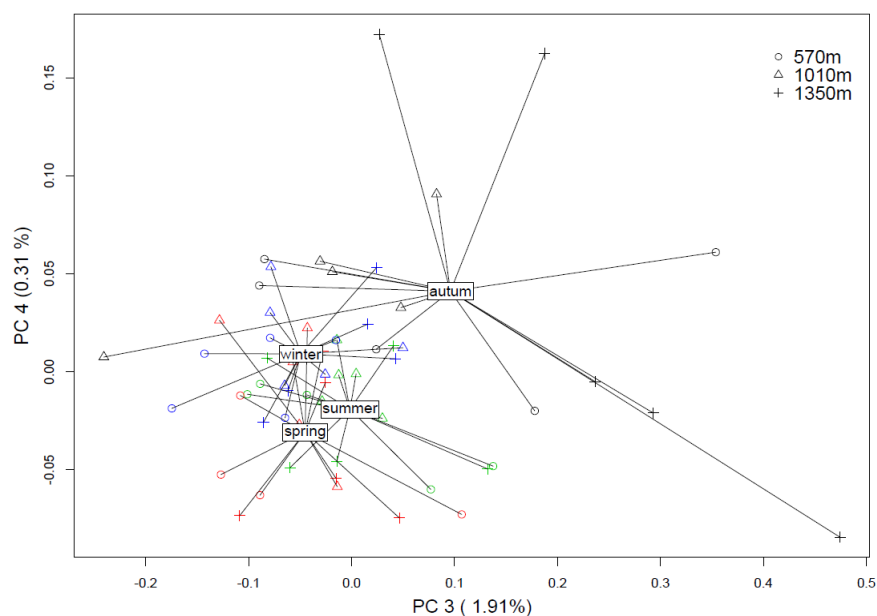


Figure.48. Modèles prédictifs de l'activité enzymatique globale (FDA). Variable du modèle : humidité du sol, IR3 et IR4.

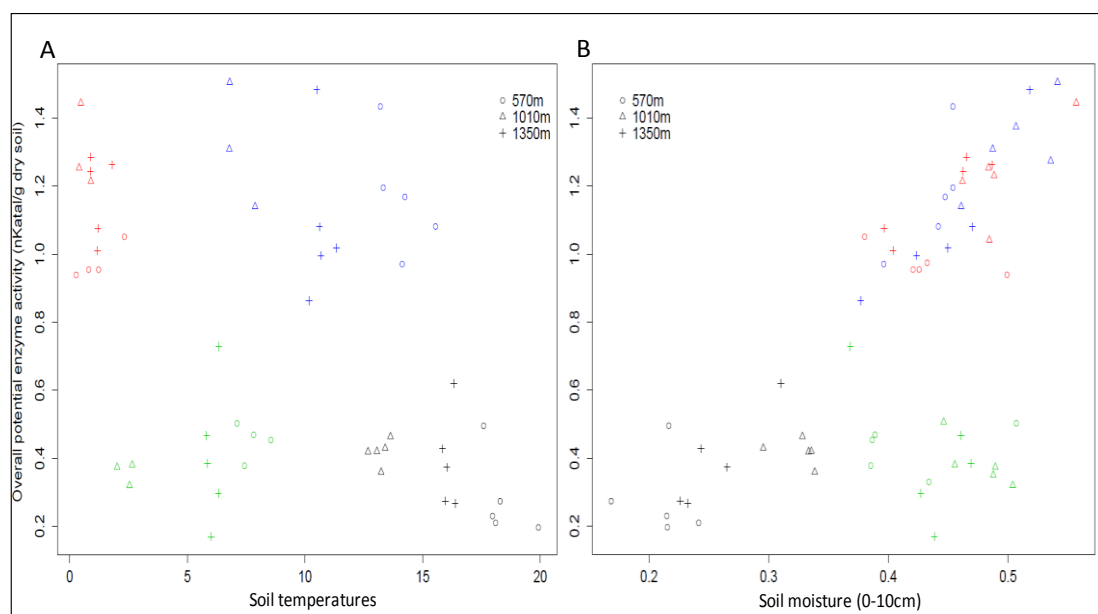


Figure.49. Lien entre activité enzymatique globale (FDA) et conditions climatiques à l'échelle annuelle. A) FDA en fonction de la température du sol (ns), B) FDA en fonction de l'humidité du sol ($R=0.63$, $p\text{-value} < 0.001$). Les couleurs des points rouges, bleus, noirs et verts sont associées respectivement aux saisons hiver, printemps, été et automne.

$$\text{Modèle (annuelle)} : \text{FDA} = a.e^{b.\text{SOIL MOISTURE}} + c.e^{d.\text{IR3}} + e.e^{f.\text{IR4}}$$

3. Principaux résultats de la première partie

Suite à l'analyse des effets directs et indirects des conditions climatiques (été/hiver + manipulation climatique) sur la dynamique de décomposition microbienne des sols, on observe :

- Une forte saisonnalité des facteurs contrôlant les activités microbiennes de décomposition.
- En hiver, les conditions climatiques agissent de manière indirecte sur les activités enzymatiques du sol (FDA et enzymes-C) en régulant la disponibilité (abondance) de la ressource considérée comme la plus labile (WEOC). En revanche, la chimie de cette ressource évaluée par l'indice d'aromaticité de la solution (UV280) n'explique pas la variabilité des activités enzymatiques (FDA et enzymes-C).
- En été, les conditions climatiques agissent de manière directe sur les activités enzymatiques du sol en régulant l'abondance des communautés microbiennes. Les faibles activités enzymatiques sont liées à un stress climatique direct. La ressource considérée comme la plus labile et disponible (WEOC) n'apparaît pas être un facteur régulant les activités enzymatiques. Cependant, la chimie de la MO située au sein de macro agrégats de sol module les activités enzymatiques du sol. Plus la MO organique intra-agrégat a une chimie proche de la MO fraîche (végétaux) plus les activités enzymatiques sont élevées. De plus, les analyses statistiques complémentaires intégrant le site intermédiaire montrent un fort lien entre l'abondance de la MO organique emprisonnée au sein de macro agrégats de sol et les activités enzymatiques de décomposition (FDA, C, P). Le degré d'hydrophobicité et d'oxydation de la fraction occPOM influencent négativement cette activité au contraire de l'indice d'aromaticité et de maturation de la MO. De manière surprenante, la ressource $freePOM$ est inversement liée aux activités enzymatiques en été.
- La manipulation climatique (scénario le plus fort, site le plus bas) engendre une accentuation des différences des facteurs régulant l'activité enzymatique. Sur le site situé à basse altitude (570m), le stress climatique provoqué lors de la saison estivale affecte directement l'abondance des microorganismes du sol qui régulent l'activité enzymatique. Au contraire, sur le site contrôle (1350m), les conditions climatiques estivales ne régulent pas directement l'abondance de la biomasse microbienne et celle-

ci n'est pas reliée à l'activité enzymatique. Le faible nombre de réplicas ne nous permet pas de regarder les liens entre les activités enzymatiques et les caractéristiques de la MO par site pour chaque saison.

- Les changements d'activité enzymatique entre l'hiver et l'été sont associés à de nombreux changements de l'abondance et de la qualité de la ressource. La fraction occPOM est significativement et positivement reliée aux activités enzymatiques (FDA et N). L'abondance des autres fractions (WEOC et freePOM) considérées comme les plus labiles est inversement reliée à l'activité enzymatique (FDA, C, N et P). Le degré d'aromaticité de la fraction WEOC estimé par l'indice UV280 a un effet significatif. Plus le degré de la solution WEOC augmente, moins les activités enzymatiques (FDA, C, N, P) sont importantes. La chimie des fractions freePOM et occPOM a un effet significatif sur les activités enzymatiques. Pour la fraction freePOM, les indices d'oxydation et de condensation impactent positivement les activités enzymatiques mesurées. Plus le degré de la solution WEOC augmente, moins les activités enzymatiques (FDA, C, N, P) sont importantes. Concernant la MO protégée par les macros agrégats de sol (occPOM), le ratio C-alkyl/O-Alkyl, l'indice d'hydrophobicité ainsi que celui de condensation de la MO influence négativement les activités enzymatiques.

Les résultats sur les variables sélectionnées lors de la construction de modèles prédictifs de l'activité enzymatique potentielle globale (FDA), à l'échelle annuelle (automne/hiver/printemps/été) ou saisonnière (été et hiver) nous indiquent plusieurs choses :

- L'humidité est le facteur climatique le plus pertinent pour expliquer la variabilité de l'activité enzymatique sur l'ensemble des campagnes d'échantillonnages.
- La composition chimique du sol estimée par spectroscopie infrarouge permet d'expliquer une part de la variabilité des activités enzymatiques que l'humidité seule ne permet pas.
- Les paramètres microbiens et de caractérisation de la ressource (abondance et qualité des fractions de MOS) sont de meilleurs prédicteurs des activités enzymatiques par rapport aux données climatiques seules (SEM, été /hiver)
- La chimie du sol total (organique et minérale) est différente pour la saison automnale.

4. Discussion de la première partie

Ce premier volet du troisième chapitre met en lumière l'influence primordiale du climat dans la régulation des activités enzymatiques du sol par le biais d'effets directs et indirects. L'étude se focalise en priorité sur les saisons hivernales et estivales qui sont caractérisées par des conditions climatiques drastiquement différentes. Ce sont, de plus, les saisons qui subiront les changements climatiques les plus prononcés (réduction du manteau neigeux, sécheresse et vague de chaleurs) (IPCC, 2013, Gobiet et al., 2014). L'ensemble des données disponibles (paramètres de la ressource et du compartiment microbien) en hiver et en été, a permis d'établir les principaux facteurs de régulation de la décomposition microbienne en fonctions des conditions climatiques. De plus, les facteurs permettant d'expliquer la variabilité intra annuelle des activités enzymatiques, incluant les saisons automnales et printanières sont discutés. Peu d'études traitent par approche expérimentale du lien entre la décomposition microbienne et la disponibilité de leurs ressources en milieu naturel. On observe généralement dans la littérature soit des approches centrées sur le compartiment microbien ou soit centrées sur la MOS et ses différentes fractions. Cette fracture dans la manière d'étudier le fonctionnement du sol et ses réactions face à des perturbations résultent probablement de l'histoire de la science du sol. Les approches « d'écologie » sont centrées sur le vivant (compartiment microbien, réseau trophique) alors que les approches de « biogéochimie » sont centrées sur les pools de MOS. Dans cette discussion, ces deux approches sont réunies pour mieux comprendre les processus de régulation directs et indirects du climat sur les des activités enzymatiques du sol.

4.1. Saison hivernale et estivale : des fonctionnements drastiquement différents

En hiver, sous le manteau neigeux, les conditions climatiques n'apparaissent pas être par effet direct, un facteur limitant des activités microbiennes de décomposition de la MO. La température proche de 0°C est très stable et l'humidité du sol relativement élevée (chap1). Sous de telles conditions climatiques, nos résultats montrent que l'abondance de la ressource la plus labile (WEOC) est le facteur prépondérant qui régule les activités enzymatiques du sol. Plusieurs études montrent une corrélation positive entre les communautés microbiennes (activité et/ou abondance) et la concentration en carbone organique dissout (WEOC/DOC) (Rees et Parker, 2005 ; Marschner et Kalbitz 2003 ; Fenner et al., 2005). Dans notre étude,

cependant, la fraction WEOC n'est pas directement liée à l'abondance des communautés microbiennes. Un lien indirect peu s'établir par le biais de la régulation des activités enzymatiques du sol limitant la croissance des populations microbienne du sol. De plus, l'abondance en WEOC apparaît être directement régulée par les conditions climatiques (humidité du sol). Ainsi, en contrôlant, la disponibilité de la ressource (WEOC), les conditions climatiques régulent indirectement les activités enzymatiques du sol en hiver. Ce résultat est en accord avec plusieurs études qui ont montré que la ressource était le facteur limitant de l'activité microbienne estimée en mesurant la respiration du sol (Brooks et al., 2005 ; Harrysson Drotz et al., 2009 ; Öquist et Laudon, 2008). Scott-Denton et al. (2006) ont montré que de fortes concentrations en sucrose dans le sol sous le manteau neigeux indiquent probablement une origine racinaire du WEOC en hiver. En effet, la déformation du sol et le renouvellement des racines fines pourraient libérer du C dissout dans le sol. Contrairement à ce qui est généralement reporté, nos résultats ne montrent pas d'influence du degré d'aromaticité du WEOC sur sa biodégradabilité estimée par les activités enzymatiques mesurées (Zoungrana et al., 1998 ; Pinney et al., 2000 ; Kalbitz et al., 2003). Ce résultat pourrait être dû à une forte diversité des communautés microbiennes capables de dépolymériser un substrat qui présenterait une chimie variée. En résumé, lors de la saison hivernale, les conditions climatiques apparaissent suffisamment clémentes sous le manteau neigeux pour favoriser une activité enzymatique et une biomasse microbienne élevée qui serait limitée dans sa croissance par la disponibilité de la ressource labile (WEOC).

En été, les conditions climatiques beaucoup plus sèches et chaudes changent considérablement les facteurs régulant les activités enzymatiques du sol par rapport à la saison hivernale. Les résultats ont mis en évidence un effet direct de l'humidité du sol sur le compartiment microbien. En effet, nos résultats montrent que le stress hydrique provoqué par les conditions climatiques estivales entrave le développement des microorganismes et ainsi leurs activités enzymatiques. Le stress hydrique peut affecter soit directement l'activité physiologique des microorganismes soit limiter la diffusion et la stabilité des enzymes extracellulaires du sol et des substrats et produits de la réaction (Burns et al., 2013). Le lien entre la réduction de la biomasse microbienne et l'activité enzymatique n'est pas toujours remarqué dans la littérature avec des réactions qui dépendent de l'étude et des enzymes considérées (Alster et al., 2013 ; Steinweg et al., 2013 ; Zeglin et al., 2013). En raison de cet effet direct du climat sur les activités enzymatiques du sol, la ressource WEOC n'influence

pas les activités enzymatiques contrairement à la saison hivernale. Cependant, nos résultats montrent qu'une autre fraction de la MOS est positivement liée aux activités enzymatiques en été. En effet, on observe une forte corrélation entre la quantité de MO contenue au sein des macros agrégats de sol (occPOM) et les activités enzymatiques du sol. L'hypothèse la plus probable pour expliquer ce lien, est la modification des conditions environnementales au sein des macros agrégats de sol permettant une meilleure activité enzymatique. En modifiant la structure des pores du sol les agrégats du sol modifient la capacité de rétention en eau (Celik et al., 2004 ; Liu et al., 2011). En été, l'humidité du sol étant le facteur limitant, les activités enzymatiques pourraient se limiter à l'intérieur des agrégats de sol, là où l'humidité est encore suffisante pour permettre les échanges biotiques. De plus, la chimie de la MOS organique influence les activités enzymatiques. En effet, d'après nos résultats plus la MOS est d'origine fraîche (ratio C-Alkyl/O-Alkyl) et plus l'activité enzymatique est importante. De plus, une activité enzymatique plus importante est observée lors de la présence de MOS moins hydrophobe, moins oxydée et plus aromatique et mature. Les propriétés chimiques de la MOS pourraient donc influencer directement les activités enzymatiques à l'intérieur des agrégats de sol. En résumé, la saison estivale se caractérise par des conditions climatiques stressantes pour les microorganismes du sol. Les activités enzymatiques semblent se confiner aux agrégats de sol, là où les conditions d'humidité du sol le permettent. Le climat par son effet direct est alors le facteur limitant contrairement à la saison hivernale où la disponibilité de la ressource est le facteur limitant des activités enzymatiques.

La différence des facteurs régulant la dynamique de décomposition des MOS entre l'été et l'hiver souligne les effets potentiels qu'engendrerait une modification de la durée de ces saisons (diminution du manteau neigeux notamment) sur le fonctionnement du sol et sa capacité à stocker de la MOS.

4.2. Comment expliquer la forte variabilité intra-annuelle des activités enzymatiques

Les activités enzymatiques mesurées sur l'ensemble de l'année montrent une très forte variabilité intra-annuelle ainsi qu'une variabilité plus faible mais significative due à l'expérimentation climatique (cf chapitre 1). Les facteurs mesurés permettant d'expliquer au mieux ces variabilités sont l'humidité du sol et la chimie du sol total estimées par spectroscopie infrarouge. L'humidité du sol est en effet le facteur climatique prépondérant qui

est à l'origine des différences d'activités enzymatiques observées. Comme nous l'avons discuté auparavant, l'humidité du sol peut faire chuter drastiquement les activités enzymatiques potentielles du sol (en été notamment). La sensibilité des activités microbiennes de décomposition à une augmentation de la température a été fortement étudié par rapport à celle liée à une modification des régimes de pluie. Cependant des études récentes montrent le rôle prépondérant de l'humidité du sol comparée à la température et pointent le manque d'investigation sur ce sujet (Luo, 2007 ; Carvalhais et al., 2014). Une humidité du sol suffisante est une condition *sine qua non* aux processus de décomposition de la MOS. De plus le fait que la chimie du sol permet de mieux prédire la variation des activités enzymatiques indique que le sol peut moduler les effets des conditions climatiques sur les activités enzymatiques. Le rôle de la minéralogie du sol dans la régulation des mécanismes de stabilisation du C est bien reconnu (Von Lützow et al., 2008 ; Heckman et al., 2009). La modulation des effets des conditions climatique par la nature chimique (IR) sol est particulièrement observée en automne. En effet, la nature chimique du sol total estimée par spectroscopie IR montre que les échantillons de la saison automnale sont différents. Ces différences pourraient être à l'origine des faibles activités enzymatiques observées en automne par rapport aux saisons hivernales et printanières malgré un taux d'humidité du sol relativement semblable (cf article chapitre 1). De plus les enzymes liées aux cycles de l'azote et du phosphore présentent une activité plus importante durant la saison automnale. La chimie du sol pourrait donc être à l'origine de la réponse singulière des activités enzymatiques observées en automne. Il peut s'agir d'un effet de la qualité de la MOS (accumulation de *free*POM non décomposée en été) ou bien d'un effet des conditions climatiques sur la minéralogie du sol (argiles en suspension dans la solution de sol dues aux fréquentes précipitations). Ces hypothèses ne sont cependant que spéculatives et les outils et méthodes déployés dans cette thèse ne nous permettent pas de répondre à cette question.

Les données disponibles pour les saisons hivernales et estivales nous permettent une étude plus fine. De nombreux paramètres liés à l'abondance et la chimie des fractions de MOS changent entre ces deux saisons. La fraction la plus labile présente un degré d'aromaticité plus élevé en été qu'en hiver qui pourrait entraver les activités enzymatiques (Zoungrana et al., 1998 ; Pinney et al., 2000 ; Kalbitz et al., 2003). Ces changements sont liés à un changement de la structure des communautés microbiennes et de leurs biomasses (cf article 1) qui pourrait également expliquer les fortes différences d'activités enzymatiques

observées entre l'été et l'hiver. Outre les fortes différences d'humidité entre ces deux saisons, d'autres facteurs tels qu'ils viennent d'être discutés peuvent être à l'origine des différences d'activités enzymatiques observées.

4.3. Limites et perspectives de l'étude des liens ressource/microorganismes

Notre étude des liens entre la ressource énergétique des microorganismes (MOS) et leurs activités enzymatiques présente plusieurs limites. Les mesures des pools de Corg ainsi que les mesures des activités enzymatique ne sont que des estimations des valeurs réelles qu'il faudrait mesurer *in situ* (cf discussion chap1 et 2). Etudier le lien entre des valeurs potentielles peut entraver l'observation de lien existant lors du fonctionnement naturel du sol. Les méthodes de marquages isotopiques et bio-marqueurs sont en plein développement et offrent l'opportunité d'étudier directement l'origine des MOS utilisées par les microorganismes du sol (Paterson et al, 2009a ; 2009b ; Amelung et Brodowski, 2008).

Les campagnes de terrain réalisées (une par saison) ne reflètent pas le fonctionnement global de la dynamique de décomposition de la MOS lors de la saison. Le fait de réaliser une mesure à une date précise permet d'obtenir une image du fonctionnement du système et les résultats obtenus ne peuvent être extrapolés à la saison entière. Cette limite de l'étude est d'autant plus vraie lorsque les conditions pédoclimatiques varient grandement lors d'une saison ou sur un site donné. La saison estivale est un très bon exemple. En effet, les conditions particulièrement sèches régnant durant cette saison bloquent les processus de décomposition de la MOS. Cependant lors d'épisodes de pluie (orages par exemple), étant donnée la forte concentration en MOS labiles disponibles (WEOC et freePOM) et les températures élevées, les activités enzymatiques pourraient alors être extrêmement élevées. Notre échantillonnage est donc plus ou moins représentatif de la dynamique de décomposition. Cette représentativité dépend des saisons. En hiver, les conditions climatiques (humidité et température) sous le manteau neigeux sont très stables (Edwards et al, 2007) comparées aux fortes fluctuations d'humidités et de températures observées lors de la saison estivale. En hiver, notre échantillonnage est donc sûrement plus représentatif des liens existant entre la MOS et les enzymes du sol. Le concept de «hot spot, hot moment » a d'ailleurs été récemment évoqué pour représenter la variabilité spatiale et temporelle des activités de décomposition de la MOS (McClain et al., 2003 ; Kuzyakov et Blagodatskaya, 2015). La figure 50 illustre bien ce concept et permet de se représenter la différence d'activité

entre l'activité moyenne du sol total et celle qui se limite dans l'espace et le temps et qui est très élevée.

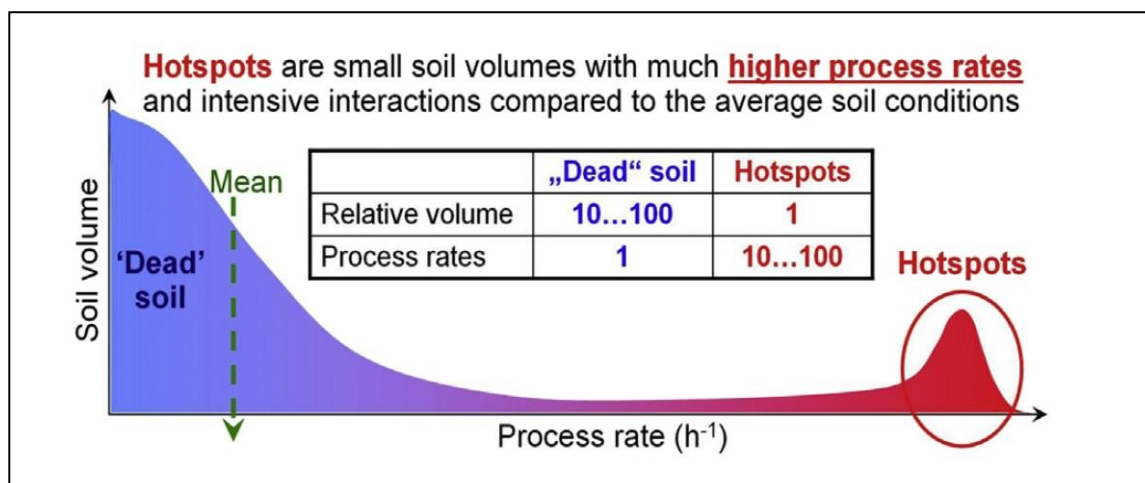


Figure.50 : Illustration du concept de hot spots. Un hot spot se caractérise par une très forte activité microbienne comparée au sol total et est limité dans l'espace ou le temps (Kuzyakov et Blagodatskaya, 2015).

Enfin, le faible nombre de réplicas par site (cinq) limite la puissance statistique des études des effets directs et indirects du climat sur les activités enzymatiques du sol.

4.4. Conclusion

Les interactions entre le compartiment microbien du sol et la MOS dépendent des conditions climatiques. En hiver, sous le manteau neigeux, les conditions climatiques ont un effet indirect sur les activités microbiennes de décomposition en régulant la disponibilité en ressource labile (WEOC). En été, les conditions climatiques hydriques stressantes engendrent un effet direct limitant la croissance des communautés microbiennes et leurs activités enzymatiques. La chimie des MOS semble réguler les activités de décomposition microbienne, concernant essentiellement la MO au sein des macros agrégats de sols. L'effet de la chimie de la MO dépend des conditions environnementales (Schmidt et al, 2011). La manipulation climatique accentue les différences saisonnières des facteurs régulant l'activité de décomposition microbienne. De plus une réduction de la durée de la saison hivernale et une augmentation de la durée de la saison estivale sont attendues. Ainsi, à terme la dynamique annuelle de décomposition des MOS pourrait être altérée, impactant ainsi le cycle des nutriments

(C, N, P) et les stocks de C notamment. Enfin, l'humidité du sol et la chimie du sol sont les variables prépondérantes qui expliquent la dynamique annuelle des activités enzymatiques du sol.

III. Deuxième partie : Effets de 5 ans de manipulation climatique sur les stocks de C des sols et les stocks de matière organique de la végétation

1. Introduction

Afin d'étudier la répercussion de cinq années de manipulation climatique sur les stocks de C_{org} du sol, un échantillonnage sur l'ensemble du profil des transplants de sol a été réalisé lors de l'été 2014. A cette occasion, la biomasse végétale aérienne et souterraine a également été quantifiée. Un fort effet de la manipulation climatique sur les concentrations en C_{org} du sol de surface (0-10cm) a déjà été observé lors des campagnes d'échantillonnages réalisées en 2012-2013 (cf. chapitre 1 et 2 de cette thèse). Par ailleurs, un effet de la manipulation climatique sur la biomasse aérienne a déjà été observé avec une diminution en 2010 et 2011 (significative au site du bas), et une augmentation significative en 2012 pour les deux scénarios de changement climatique. Dans cette partie, il s'agit de (i) faire un bilan des stocks de C aérien et souterrain (jusqu'à 30 cm de profondeur) et (ii) d'examiner si les évolutions de stocks de C_{org} du sol sont cohérentes avec la tendance observée sur les concentrations en COS.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Echantillonnage et mesures physico-chimiques

Les sols ont été prélevés en Juillet 2014, cinq années après la mise en place de l'expérimentation de transplantation de sols. Sur chaque site, deux carottes de 5cm de diamètre et de la hauteur total du lysimètre (30cm) ont été prélevées (Fig.51). Ces carottes ont été gardées intactes jusqu'au laboratoire pour permettre la mesure de la densité apparente selon la norme NF X31-501 (1992). La densité apparente des sols, corrigée du poids des cailloux et des racines a été mesurée pour les profondeurs de sol suivantes : 0-5cm, 5-10cm, 10-15cm et 15-30cm. Des mesures de variables chimiques ont été également réalisées pour chacune de ces profondeurs. Les mesures de concentration en C_{org} ainsi que celles en N total

ont été effectuées par combustion sèche selon la méthode Dumas (NF ISO 10694, 1995; NF ISO 13878, 1995, respectivement). La teneur en calcaire des sols a été mesurée par décarbonatation (HCl) selon la norme NF ISO 10693 (1995). La granulométrie des échantillons de sols a été estimée selon la norme NF ISO X31-107 (2003) et le pH à l'eau a été déterminé selon la norme NF ISO 10390 (2005). Enfin des mesures de la diversité végétale aérienne ainsi que des biomasses aériennes et racinaires ont été effectuées par le laboratoire ECOS (EPFL, Suisse). Les stocks de Corg du sol ont été déterminés selon la formule ci-dessous où les stocks sont exprimés en (t C ha⁻¹), la lettre d représente la profondeur d'échantillonnage en mètre, C est la concentration en C (G C Kg⁻¹), BD est la densité apparente (Kg m⁻³) et RM est la proportion de roche et cailloux.

$$stock = \frac{d \times C \times BD \times [1 - RM]}{100} \quad (1)$$



Figure 51 : Carotte de sol du profil complet d'un bloc de sol transplanté après 5 ans d'expérimentation climatique.

2.2. Analyses statistiques

Afin d'évaluer l'effet de 5 ans d'expérimentation climatique et de la profondeur du sol sur les variables physico-chimiques mesurées, des modèles linéaires mixtes ont été utilisés à l'aide du package R NLME (Pinheiro et al., 2014). Les variables fixes étant le site et la profondeur, et les lysimètres correspondant à la variable aléatoire. Lors d'un effet significatif observé entre les sites de transplantation, des tests post-hoc de comparaisons Tukey's HSD ont été réalisées à l'aide du package lsmeans (Lenth, 2013). L'ensemble des analyses a été réalisé à l'aide du logiciel R 2.14.0 (R Development Core Team 2011).

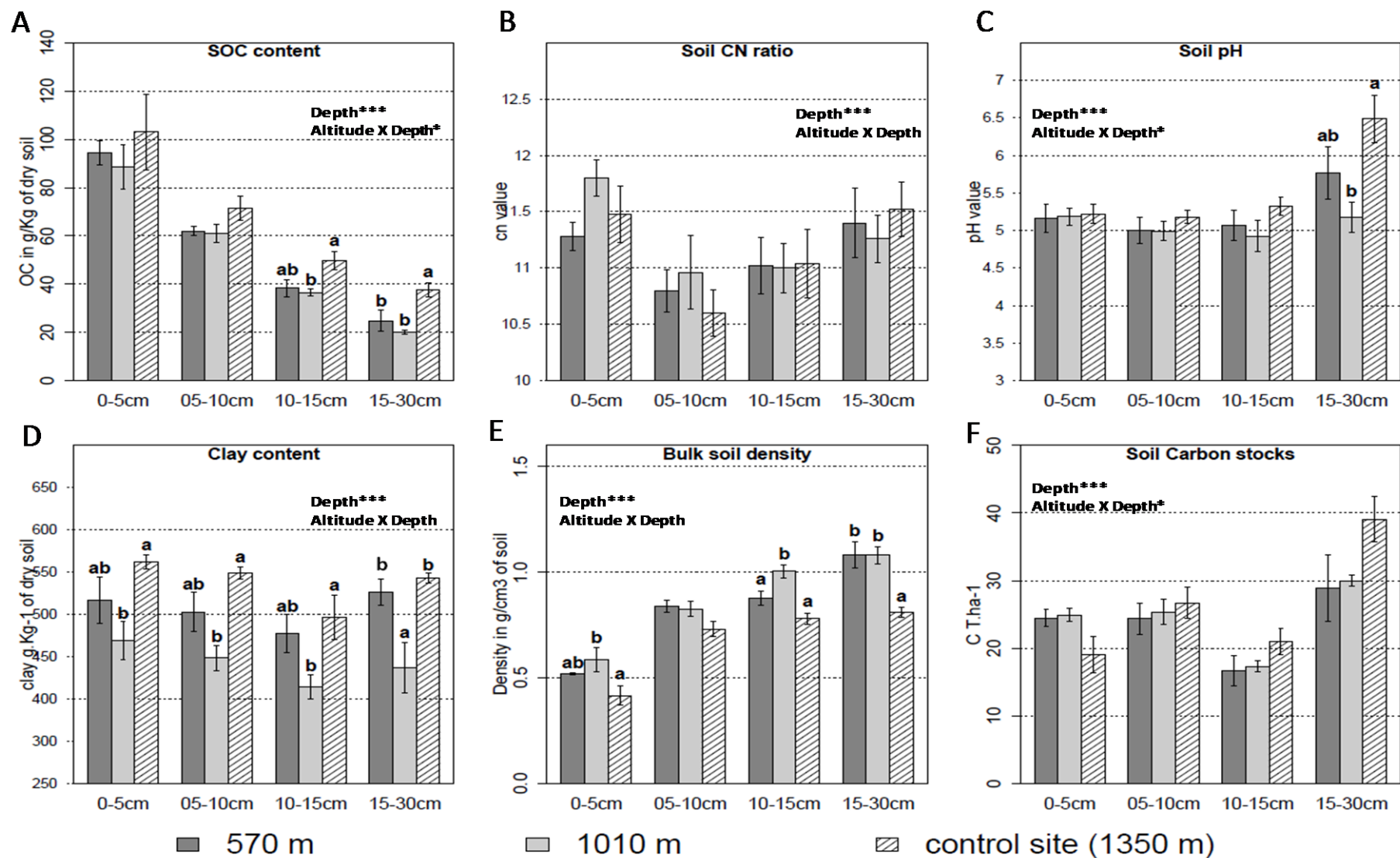


Figure 52. Résultats des analyses physico-chimiques du sol effectuées après 5 ans d'expérimentation de manipulation climatique. A) Concentration en carbone de sol, B) C/N ratio, C) pH du sol, D) Concentration en argile, E) Densité apparente ou masse volumique du sol, F) Stock de Carbone organique du sol. Différentes lettre indiquent des différences significatives entre sites. Les étoiles permettent d'apprécier le degré de significativité de l'effet du facteur « profondeur » et de l'interaction entre la profondeur et la variable « site ».

2.3. Résultats

La concentration en COS décroît fortement avec l'augmentation de la profondeur, passant de 8 à 12 % COS (0-5cm) à des valeurs comprises entre 2 et 4 % (15-30cm) (Fig. 52.A). De plus, on observe un effet significatif de la manipulation climatique sur les concentrations en COS. Une diminution de la concentration en COS est constatée pour le site intermédiaire (1010m) et le site le plus bas (570m). Cette tendance observée devient significative à partir de la profondeur comprise entre 10 et 15 cm et s'accroît pour la profondeur la plus basse (15-30 cm). Ce résultat est confirmé par l'interaction significative des variables « profondeurs » et « altitude » du modèle mixte construit (Fig. 52, A).

Contrairement à la concentration en COS, le ratio C/N ne montre pas de différence significative entre sites. La profondeur d'échantillonnage a un effet significatif avec une diminution du C/N en passant de l'horizon 0-5cm à l'horizon 5-10cm (passant de 11.5 à 10.75 en moyenne). Le C/N augmente de nouveau ensuite avec la profondeur pour atteindre des valeurs équivalentes à l'horizon de surface pour l'horizon situé le plus en profondeur (15-30cm) (Fig.52, B).

Le pH du sol est en moyenne de 5.3. On observe un fort effet de la profondeur avec une augmentation importante du pH dans l'horizon 15-30cm, marquant une décarbonatation incomplète de l'horizon de profondeur. Cette augmentation dépend du site (Fig 52, C) et elle est non significative pour le site intermédiaire, un peu plus importante pour le site le plus bas (570m) et très franche pour le site contrôle (1350m). Ces résultats sont fortement liés à la concentration en calcaire des sols. En effet, les sols profonds (15-30cm) du site contrôle (1350m) ont une concentration en calcaire de 5 g.Kg⁻¹ (moyenne, n=5), alors que les sols profonds (15-30cm) du site intermédiaire (1010) et de basse altitude (570m) ont une concentration en calcaire de 1 g.Kg⁻¹ (limite de détectabilité).

On remarque de fortes différences de concentration en argiles entre sites après 5 ans d'expérimentation climatique. Le site intermédiaire (1110m) présente des teneurs en argiles significativement plus faibles que le site contrôle (1350m) et ce, quelle que soit la profondeur considérée. Le site situé à basse altitude (570m) présente un comportement intermédiaire entre ces deux extrêmes. Les teneurs en argiles varient entre les sols de 40% à 56%. On constate également que la profondeur n'influence pas la différence entre sites excepté pour le site de basse altitude qui rejoint les teneurs en argiles du site contrôle au niveau de l'horizon profond (Fig.52, D).

La densité apparente du sol est fortement affectée par la manipulation climatique ainsi que par la profondeur du sol. Le site intermédiaire présente des valeurs de densité apparente du sol significativement plus élevées que le site contrôle (Fig.52, E). Le site de basse altitude à une densité apparente comprise entre ces deux extrêmes. Le patron observé pour la densité apparente du sol est l'inverse de celui observé pour la concentration en COS. Ceci est confirmé par la forte corrélation s'établissant entre ces deux variables ($R^2=0.88^{***}$). De plus l'humidité du sol (teneur en eau gravimétrique) est fortement corrélée avec la densité apparente du sol ($R^2=0.77^{***}$).

Les stocks de COS n'apparaissent pas directement affectés par cinq années de manipulation climatique. En effet, il n'y a aucune différence significative de stocks de COS entre sites et ce, quelle que soit la profondeur considérée (Fig.52, F). Cependant une tendance se dessine, avec des stocks plus importants sous les deux scénarios de changement climatique que sur le site contrôle pour les horizons de surface (0-5cm). Cette tendance semble s'inverser avec la profondeur où l'on constate des stocks moins importants sous les deux scénarios de changement climatique que sur le site contrôle (10-15cm et 15-30cm). Les stocks de COS sur les 30 premiers cm sont respectivement de 104.6 ± 9.7 ; 97.6 ± 2.7 ; 94.5 ± 8.7 pour le site contrôle (Marchairuz, 1350m), le site intermédiaire (Saint-George, 1010m) et le site de basse altitude (Arboretum, 570m). Il n'y a aucune différence significative entre les sites et les moyennes sont données avec les erreurs types.

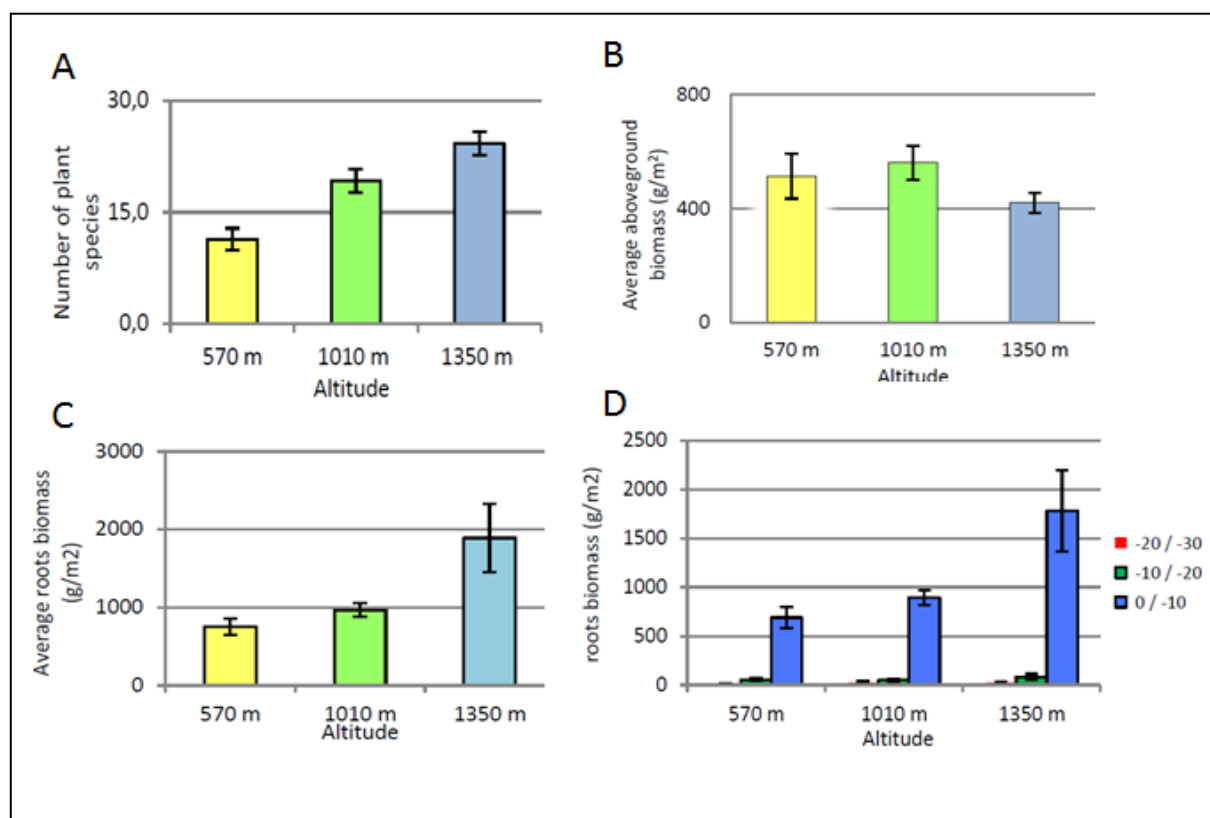


Figure.53. Effets de la manipulation climatique sur le compartiment végétal aérien et souterrain après 5 ans d'expérimentation. A) Diversité d'espèces, B) Biomasse aérienne, C) Biomasse racinaire (0-30cm), D) Biomasse racinaire par profondeurs de sol.

Concernant le compartiment végétal, différents effets de la manipulation climatique sont observés (Fig.53). Comparé au site contrôle, le nombre d'espèces végétales diminue significativement pour le site le plus bas (570m, p -value < 0.01) et suit la même tendance pour le site intermédiaire (1010m, p -value = 0.085). La biomasse végétale aérienne n'est pas impactée par la manipulation climatique. Concernant la biomasse racinaire, un fort effet de la manipulation climatique est observé. Comparée au site contrôle, la biomasse racinaire diminue significativement pour le site le plus bas (570m, p -value < 0.05) et suit la même tendance pour le site intermédiaire (1010m, p -value = 0.073). L'essentiel de la biomasse racinaire étant concentré dans les 10 premiers centimètres du profil.

3. Discussion

Après cinq années d'expérimentation climatique, les tendances observées en 2012/2013 sur les concentrations en C_{org} des sols transplantés sont confirmées par la campagne 2014 de prélèvement. La manipulation climatique entraîne bien une diminution des concentrations en COS. Cette diminution de la concentration en COS est significative pour les deux sites transplantés et légèrement plus importante sous le scénario intermédiaire de changement climatique (site 1010m). Ces résultats confirment les résultats obtenus lors des campagnes d'échantillonnage 2012/2013 sur les 10 premiers centimètres du sol (cf. chapitre 1 et 2), même si en 2014, la diminution de la teneur en COS sous l'effet de la manipulation climatique n'est pas significative pour les profondeurs de sol de 0-5cm et de 5-10cm. L'échantillonnage de l'ensemble du lysimètre (30 cm) confirme cet effet de la manipulation climatique. Les mesures de biomasse végétale montrent une forte diminution de la biomasse racinaire sous l'effet de la manipulation climatique. Cette réduction pourrait être une des causes de la réduction de la concentration en COS transplantés étant donné que les racines sont la source principale d'entrée de COS dans les sols dans les systèmes prairiaux (Hitz et al., 2001 ; Gregorich et al., 2006). Toutefois, cette interprétation est en contradiction avec les résultats du chapitre 2 de cette thèse qui montrent que (i) la perte de COS total dans les sites transplantés est liée à une perte de COS issu de la fraction MAOM et (ii) également une augmentation de la teneur en POM dans les sites soumis aux scénarios de changement climatique. Cette réduction de la biomasse racinaire pourrait être liée à la diminution de la diversité spécifique végétale observée sur les sols transplantés. Le ratio C/N indique l'état de décomposition de la MOS. Ce ratio montre que la MO présentant le stade de dégradation le moins avancé est localisée dans l'horizon de surface ainsi que l'horizon profond (15-30cm). L'apport de MO fraîche en surface par le bais des racines permet de comprendre le ratio plus élevé au niveau de l'horizon de surface. Cependant, l'augmentation du ratio C/N au niveau de l'horizon profond est plus difficile à comprendre et ne peut refléter un apport issu de la décomposition in-situ des racines, étant donné la faible biomasse racinaire dans les horizons de profondeur. Il pourrait s'agir d'un transfert de la MO fraîche vers les horizons profonds via des processus de lixiviation. Comme évoqués dans le chapitre 2, ces processus de lixiviation sous forme de DOC pourraient être en partie à l'origine de la diminution en C_{org} des sols transplantés. Cette hypothèse se base sur des résultats de Gavasov (2013) montrant un accroissement du DOC lessivé sous les deux scénarios de changement climatique. Les valeurs de pH de l'horizon profond tendent à confirmer ce résultat. En effet, le site contrôle présente

un pH significativement supérieur aux sites 1010m et 570m. En profondeur, le pH est proche d'une valeur basique au site contrôle (6.5 en moyenne), témoignant un processus de décarbonation accéléré sous les deux scénarios de changement climatique comparé au site contrôle.

L'ensemble de ces résultats appuie l'hypothèse d'une perte de COS qui s'échappe du système (lysimètre) par une augmentation des processus de lixiviation (augmentation du DOC lessivé ; Gavazov, 2013) et de lessivage d'argiles (perte de MAOM sous l'effet d'une défloculation des argiles associée à l'accélération du processus de décarbonatation) sous l'effet de la manipulation climatique au sein des deux sites transplantés. Ces résultats rappellent la voie évolutive séquentielle pédologique des formations limoneuses loessiques de la partie nord de la France (Jamagne, 2011) avec une évolution des calcosols/calcisols vers des brunisols eutriques (décarbonatation / désaturation), puis vers des luvisols (lessivage des argiles).

Les valeurs des stocks de SOC mesurées dans cette prairie subalpine sont relativement élevées (environ 100 t.C.ha⁻¹ sur les 30 premiers cm du sol). Les stocks de C des sols de montagne sont compris entre 4.5 et 278 t C ha⁻¹ avec une valeur médiane de 100 t C ha⁻¹ (Sjögersten et al., 2011) ce qui correspond aux valeurs des sols boréaux ou de toundra (Jobbágy et Jackson 2000). Ces valeurs correspondent généralement à des profondeurs de 1m voir de tout le profil. Cela laisse supposer des stocks beaucoup plus importants sur l'ensemble du profil dépendant de la profondeur de la roche mère. Contrairement aux teneurs en COS, les mesures des stocks de COS n'indiquent pas d'effet significatif de la manipulation climatique. Toutefois, la tendance observée sur les stocks de COS des 30 premiers cm, montre également une diminution des stocks de COS sous l'effet de la manipulation climatique bien que celle-ci soit non significative. De plus la robustesse des valeurs des stocks de COS peut être questionnée. En effet, les erreurs standard calculées sont très grandes indiquant une forte variabilité entre lysimètres. De plus la densité apparente, variable intervenant dans le calcul des stocks de COS apparaît fortement corrélée avec le degré d'humidité du sol. L'humidité du sol modifie le niveau de compaction du sol se répercutant ainsi sur les mesures de densité apparente du sol (Arrouays et al., 2003 ; Amador et al., 2000 ; Kulmatiski et Beard, 2004). Les différences d'humidité du sol entre sites perturbent ainsi la comparaison des stocks de COS entre sites. Il faudrait pouvoir être en mesure de réaliser les mesures de densité apparente lorsque les sols de sites présentent le même degré d'humidité. Une mesure des stocks de COS au début de l'expérimentation (destruction de mésocosmes initiaux lors de la

mise en place de l'expérimentation) aurait pu permettre de s'affranchir de ce biais et de conclure sur l'effet de l'expérimentation climatique sur la dynamique du stock de COS.

4. Conclusion

Les mesures des stocks de COS après cinq ans d'expérimentation tendent à montrer qu'il n'y a pas d'effet notable des scénarios climatiques simulés sur les stocks de C du sol. Cependant, il est intéressant de noter que ces résultats ne sont pas concordants avec les mesures de concentration en COS qui montrent une perte de C significative sous l'effet de l'expérimentation climatique. La robustesse des mesures de densité apparente, variable intervenant dans le calcul de stock de C peut être interrogée. En effet, ces mesures sont fortement corrélées à l'humidité du sol, facteur modifiant la compaction et ainsi la densité du sol. Il est donc très difficile de conclure sur l'effet de l'expérimentation climatique sur les stocks de C du sol. De plus, il est à noter un effet significatif de l'expérimentation climatique sur le compartiment végétal se traduisant par une diminution de la biomasse racinaire et de la diversité végétale spécifique. Ces changements du compartiment végétal pourraient modifier la dynamique d'entrée des MO dans le sol et ainsi être un facteur explicatif de la baisse de concentration en C des sols transplantés. Toutefois dans le cadre de ce travail, l'hypothèse la plus probable pour expliquer la perte de COS sous l'effet de la manipulation climatique est la lixiviation accrue de la fraction DOC et le lessivage de la fraction MAOM associées au lessivage des argiles sous l'effet d'une accélération du processus de décarbonatation.

Conclusion générale

L'objectif principal de cette thèse était d'approfondir nos connaissances sur les relations entre conditions climatiques et la dynamique du carbone organique des sols de montagne. La démarche expérimentale adoptée a permis de faire varier les conditions climatiques grâce à (i) une manipulation de changement climatique (transplantation de sol) et (ii) un suivi de la variabilité climatique saisonnière naturelle. Cette thèse s'est ainsi essentiellement concentrée sur le suivi de la quatrième année d'une expérimentation de transplantation altitudinale de sols, mise en place dans le Jura suisse en 2009. Le suivi de la dynamique saisonnière a offert l'opportunité d'étudier des variations climatiques de grande amplitude comparées à celles résultant de la manipulation climatique mise en place par l'expérimentation des transplantations de sols. L'approche par les acteurs centraux de la décomposition que sont les microorganismes (chapitre 1) a permis d'étudier en détails la réponse des communautés microbiennes aux changements des conditions climatiques. Nous avons complété cette première approche par l'étude des effets climatiques sur la dynamique de la matière organique du sol qui représente la ressource énergétique des micro-organismes. Enfin, dans le troisième chapitre de ce manuscrit de thèse la démarche a consisté d'une part (i) à évaluer dans quelle mesure le changement des conditions climatiques modifie les liens s'établissant entre les communautés microbiennes et leurs ressources énergétiques (MOS) pour contrôler la décomposition enzymatique de la MOS ; (ii) d'autre part à réaliser un bilan sur l'effet global de 5 ans de manipulation climatique sur les stocks de COS ainsi que sur la biomasse végétale aérienne et souterraine. A la fin de chacun des chapitres de ce travail de thèse, l'ensemble des résultats a été discuté en détail au regard de la littérature, en faisant ressortir les points marquants et en pointant les limites et les perspectives de cette étude vis-à-vis de la compréhension des effets des changements climatiques sur le bilan global d'entrée et de sortie de COS dans ces écosystèmes prairiaux subalpins.

Dans cette conclusion générale l'objectif est (i) de mettre en perspective les principaux apports de cette thèse vis-à-vis de notre compréhension de la dynamique du COS des prairies subalpines suisses face à l'évolution des changements climatiques et (ii) de formuler quelques recommandations pour la mise en place d'expérimentations de manipulation climatique.

I. Principaux apports de cette thèse sur notre compréhension des relations entre conditions climatiques et dynamique du carbone organique des sols

Nos résultats montrent que les effets engendrés par la variabilité climatique saisonnière sur la structure des communautés microbiennes et leur activité enzymatique de décomposition sont beaucoup plus importants que les impacts engendrés par la manipulation climatique. La structure des communautés microbiennes évolue ainsi fortement à l'échelle annuelle avec des communautés très différentes entre la saison estivale et hivernale. Les activités enzymatiques fluctuent également fortement au cours de l'année avec des activités plus élevées en hiver et au printemps et plus faibles en été et en automne (excepté pour les enzymes liées au cycle de l'azote et du phosphore). Ces résultats témoignent de la capacité des communautés microbiennes de ces sols subalpins à s'adapter rapidement à de nouvelles conditions climatiques drastiquement différentes et ce, sur des pas de temps relativement courts (quelques mois). Ces résultats confirment la forte dynamique des populations microbiennes de montagne qui sont en proie à de nombreux filtres de sélection climatique et environnementaux au cours de l'année (Zinger, 2009). Par ailleurs, nos résultats ont montré un fort découplage entre biomasse microbienne et activité enzymatique de décomposition (activités enzymatiques spécifiques) entre l'été et l'hiver, phénomène peu documenté dans la littérature scientifique. Ce découplage semble important à prendre en compte dans les modèles de dynamique du COS basés sur les activités enzymatiques (Steinweg et al., 2013; Wang et al., 2013).

La MOS, ressource énergétique des microorganismes du sol montre également une forte variabilité saisonnière de ses pools les plus labiles, tandis que ni la quantité, ni la chimie (C/N) du pool de COS le plus stable (MAOM) ne varie dans l'année. Les paramètres chimiques mesurés sur les pools de MOS montrent que la MOS emprisonnée au sein des macro-agrégats évolue chimiquement au cours de l'année, témoignant d'une intense dynamique de décomposition microbienne au sein de cette fraction.

Enfin, l'analyse des effets directs du climat (via les populations microbiennes) ou indirects (via la MO, ressource énergétique) via les SEMs saisonniers a permis d'identifier des patrons de régulation de l'activité enzymatique de décomposition différents entre la saison estivale et hivernale. En hiver, sous le manteau neigeux, les conditions climatiques régulent la disponibilité en ressource labile (WEOC), facteur limitant de la décomposition microbienne en cette saison. En été, les conditions climatiques hydriques stressantes engendrent un effet

direct limitant la croissance des communautés microbiennes et leurs activités enzymatiques. Les activités enzymatiques dépendent en cette saison de l'abondance de MO contenue au sein des macro-agrégats de sol. En été, il est à noter cependant que les conditions d'humidité sont beaucoup plus fluctuantes rendant la dynamique du système certainement très variable dans le temps et l'espace (« hot spots, hot moments »). Ces modifications saisonnières des liens de causalité entre facteurs de régulation de la décomposition enzymatique de la MOS illustrent la nécessité d'un paramétrage saisonnier des modèles de dynamique du COS basés sur les pools d'enzymes du sol (Manzoni et Porporato 2009 ; Amundson, 2001).

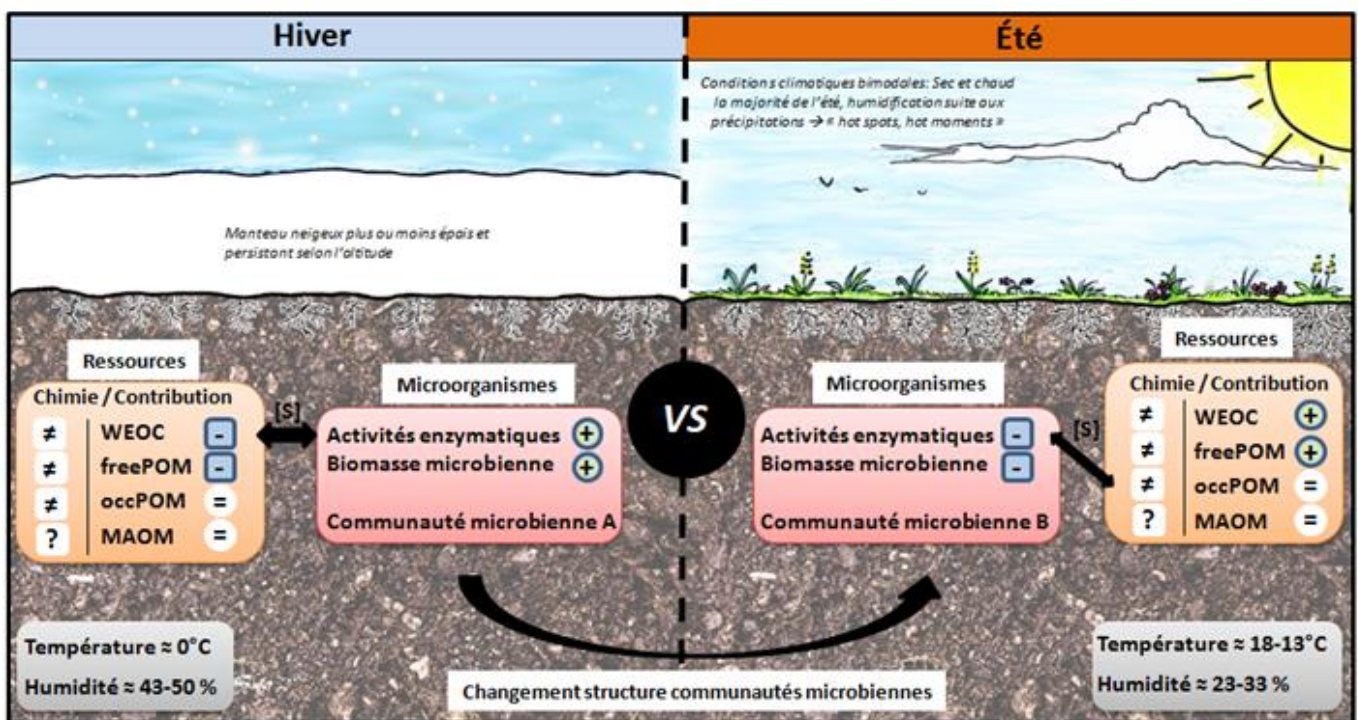
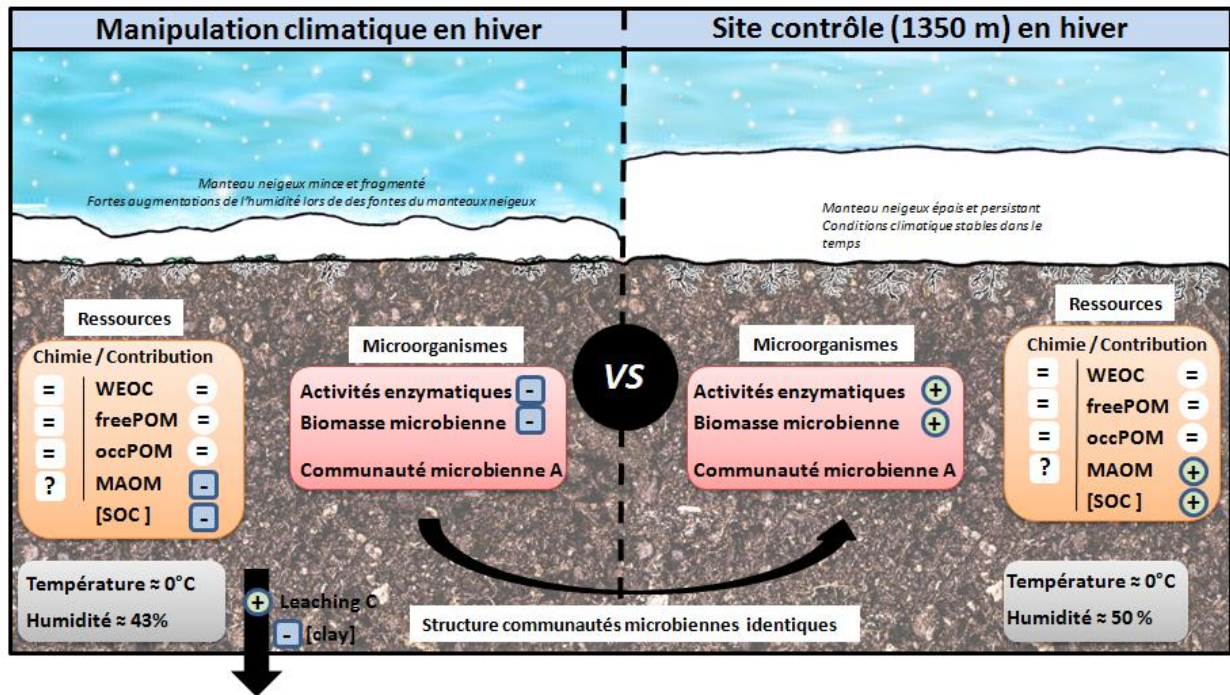


Figure.54 : Schéma récapitulatif des différences de fonctionnement de la dynamique microbienne de décomposition de la MOS entre la saison hivernale et estivale observées en prairie subalpine Suisse. Ce schéma s'applique à l'ensemble des sites du dispositif expérimental. Les abréviations WEOC, freePOM, occPOM et MAOM signifient: water extractable organic carbon, free particulate organic matter, occluded particulate organic matter et mineral associated organic matter. Le symbole [S] au-dessus des flèches noires indique la ressource corrélée avec les activités enzymatiques. Le symbole + indique une valeur plus élevée ; le symbole - une valeur moins importante ; le symbole =, une valeur non différente ; le symbole \neq , une différence significative ; le symbole ?, un résultat inconnu.

L'amplitude des changements des conditions climatiques imposées par l'expérimentation de transplantation de sols est beaucoup plus faible que celles liées à la variation intra-annuelle. Il est donc cohérent d'observer des réponses du compartiment microbien sous l'expérimentation climatique moins importantes que dans le cadre de la dynamique saisonnière. De fait, nos résultats montrent une diminution des activités enzymatiques sous l'effet des deux scénarios de changement climatique. Cet effet est faible comparé à la dynamique saisonnière mais tout de même significatif. La structure des communautés microbiennes n'apparaît pas être le facteur responsable de cette diminution car elle n'est pas affectée par quatre années de manipulation climatique (Fig.54). La biodiversité microbienne du sol ne semble donc pas subir d'altération à moyen terme sous le climat attendu au 21^{ème} siècle. Ces résultats confirment la résilience à la transplantation de sol des communautés microbiennes vis-à-vis de la sensibilité de la respiration à une augmentation de température observée par Mills et al. (2014) sur le même dispositif expérimental. Il ne faut cependant pas oublier que la méthode de caractérisation des communautés microbiennes employée (PLFAs) reste de faible résolution. La biomasse microbienne a fortement diminué sous l'effet de la manipulation climatique. Il s'agit d'ailleurs de l'unique variable montrant une réponse à la manipulation climatique plus forte que la dynamique saisonnière. Le SEM construit pour la saison estivale montre que la diminution de l'humidité sous l'effet de la manipulation climatique est le facteur prépondérant menant à la diminution de la biomasse microbienne du sol. Comme observé au niveau saisonnier, les activités enzymatiques spécifiques sont également affectées par la manipulation climatique, ce qui suggère un changement de la physiologie des microorganismes du sol sous l'effet du climat. Ce dernier point est particulièrement intéressant étant donné que de nombreux modèles simulant la dynamique enzymatique de décomposition n'intègrent pas l'évolution des pools d'enzymes par unité de biomasse microbienne en fonction des conditions climatiques.

A



B

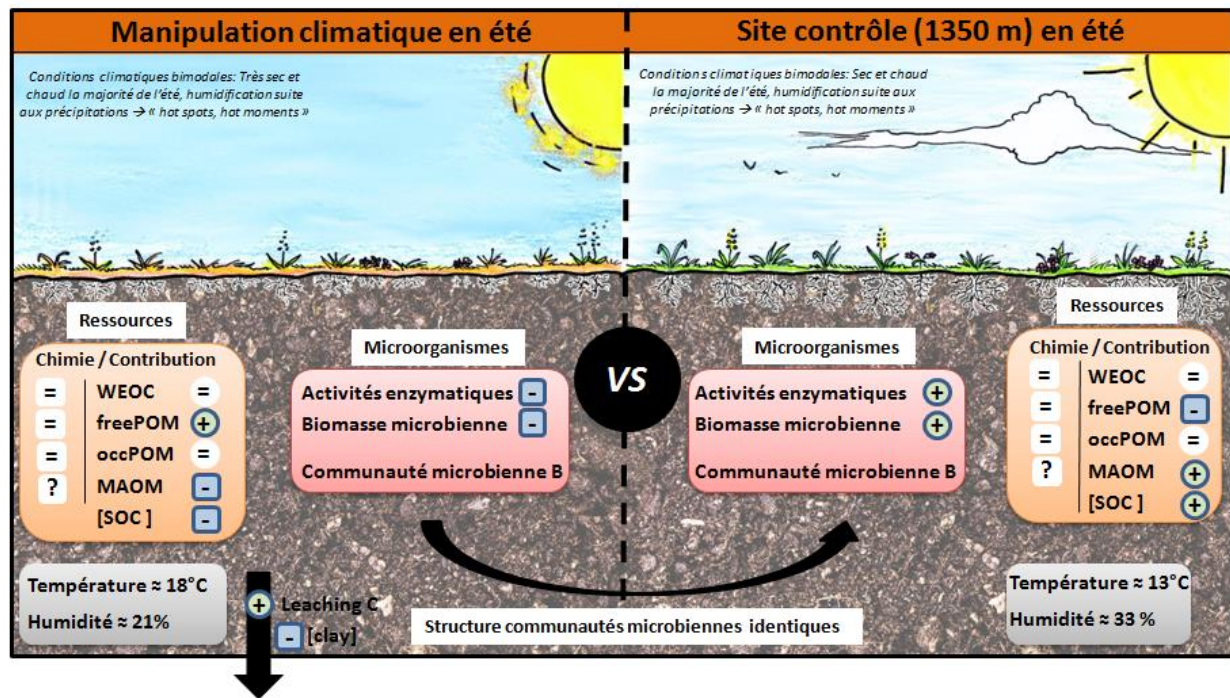


Figure.55 Dynamique microbienne de décomposition de la MOS lors de la saison hivernale (A) et estivale (B), observée en prairie subalpine suisse sous l'effet ou non de la manipulation climatique. WEOC, freePOM, occPOM et MAOM correspondent à water extractable organic carbon, free particulate organic matter, occluded particulate organic matter et mineral associated organic matter. Le symbole + indique une valeur plus élevée ; le symbole - une

valeur moins importante ; le symbole =, une valeur non différente ; le symbole ≠, une différence significative ; le symbole ?, un résultat inconnu.

Contrairement à notre hypothèse de départ, la contribution du pool de MOS le plus labile de la MO n'est pas impactée par la manipulation climatique et l'accès à cette ressource ne semble donc pas être le facteur limitant l'activité enzymatique et la croissance microbienne sous l'effet de la manipulation climatique. La freePOM (pool labile de MOS) montre même une augmentation de sa contribution au COS sous l'effet du plus fort scénario de changement climatique. Les SEMs montrent que l'augmentation de la contribution de la freePOM en été est due à la diminution des activités microbiennes de décomposition plutôt qu'à un effet des conditions climatiques sur la disponibilité des ressources pour les microorganismes. De plus la manipulation climatique augmente les différences saisonnières de l'abondance des microorganismes avec un effet accru des différences de biomasse microbienne entre sites en été.

Notre étude portant sur les effets des conditions climatiques sur la décomposition enzymatique de la MOS en prairie subalpine de moyenne montagne calcaire souligne le rôle primordial du climat qui modifie de manière significative les facteurs contrôlant ce processus de l'écosystème. L'ensemble de nos résultats montre clairement un fort effet des conditions climatiques sur la dynamique de décomposition de la MOS estimée par l'étude des activités enzymatiques potentielles du sol. Ces effets des conditions climatiques sur la décomposition enzymatique de la MOS ont été, soit (i) directs via la régulation de la structure et de l'abondance des communautés microbiennes, soit (ii) indirects via la régulation de l'abondance et la chimie de la ressource énergétique des microorganismes (MOS). Les très fortes variabilités saisonnières des activités enzymatiques observées soulignent le rôle crucial des saisons dans la dynamique de décomposition de la MOS. Cette dynamique s'avère fortement reliée aux pools labiles de la MOS. Ainsi une réduction de la durée de la saison hivernale et une augmentation de la durée de la saison estivale pourraient à terme altérer la dynamique annuelle de décomposition des MOS impactant ainsi le cycle du carbone du sol, mais aussi celui des nutriments (N, P). Enfin, notre étude souligne la capacité des communautés microbiennes de cet écosystème prairial subalpin à s'adapter aux conditions climatiques d'un monde plus chaud et plus sec.

II. Dynamique du COS du sol sous l'effet de l'expérimentation climatique.

Il est intéressant de constater que quatre années de manipulation climatique ont suffi à affecter de manière significative la dynamique du COS. La forte diminution de la concentration en COS des sols sous l'effet de l'expérimentation climatique est difficile à expliquer car notre approche ne nous a pas permis de mesurer l'ensemble des flux de C entrant et sortant du système. Cependant plusieurs résultats permettent de mieux envisager les facteurs responsables de cette diminution de la concentration en COS. De manière surprenante, nous avons constaté que la dynamique de la décomposition microbienne ne permettait pas d'expliquer la dynamique du COS. La diminution des activités enzymatiques (ce travail de thèse) et de respiration (Mills et al, 2014) dues à la manipulation climatique devrait engendrer une augmentation de la concentration en C plutôt qu'une diminution. Les sorties de C par décomposition microbienne (CO_2) ne sont donc pas responsables de la diminution de la concentration en COS. Concernant les entrées de C les données disponibles sont la quantité de biomasse végétale aérienne lors des trois premières années de l'expérimentation (2010, 2011 et 2012) mesurées par Gavasov (2013) ainsi que des mesures de biomasse végétale aérienne et racinaire lors de notre campagne d'échantillonnage de 2014 (cinquième année d'expérimentation), les résultats ne montrent aucune tendance claire sur l'ensemble des cinq années de l'expérimentation. Soit la biomasse aérienne diminue sous l'effet du changement climatique (2010, 2011) soit elle n'est pas affectée (2014) soit elle augmente (2012). La biomasse racinaire diminue quant à elle fortement sous l'effet de la manipulation climatique lors de la campagne de terrain en 2014. A partir de ces seules données, il est difficile de savoir si le flux d'entrée de MO est responsable de la dynamique du COS observée sous l'effet de la manipulation climatique. L'étude des pools de la MOS nous permet de mieux comprendre l'origine de cette perte en COS. Nos résultats montrent que la quantité de COS incluse dans ces pools labiles de MOS n'est pas affectée par l'expérimentation climatique et que la contribution de la freePOM au COS total augmente. Ainsi il est peu probable que les différences de concentration en COS sous l'effet de l'expérimentation soient dues à la dynamique des entrées de C. Il ne reste donc plus qu'à considérer la dynamique des sorties de C en excluant les sorties par respiration (CO_2) déjà exclues. Nos résultats indiquent une augmentation du flux des sorties de C par lixiviation du carbone organique dissout (DOC) et lessivage de la MOS liées aux minéraux (MAOM ;

processus de lessivage des argiles). En effet, la quantité de COS liée aux minéraux (fraction MAOM) diminue fortement sous l'effet de la manipulation et de manière similaire au C_{org} du sol total. On constate également une diminution de la teneur en argile du sol suggérant une perte du C particulaire lié aux argiles du sol. Le deuxième résultat est celui obtenu par Gavazov (2013) qui montre une forte augmentation de la lixiviation du DOC sous l'effet des deux scénarios de manipulation climatique. Ceci rejoint également l'hypothèse d'une accélération du processus de décarbonatation en profondeur dans les mésocosmes soumis aux deux scénarios de changement climatique. Ainsi l'ensemble de ces résultats permet de définir la lixiviation du DOC et le lessivage de la fraction MAOM sous l'effet d'une accélération du processus de décarbonatation comme l'hypothèse la plus probable pour expliquer la diminution de la concentration du COS. Ces résultats rappellent la voie évolutive séquentielle pédologique des formations limoneuses loessiques de la partie nord de la France (Jamagne, 2011) avec une évolution des calcosols/calcisols vers des brunisols eutriques (décarbonatation / désaturation), puis vers des luvisols (lessivage des argiles). Cependant, notre approche ne nous permet pas de démontrer avec certitude qu'il s'agit de cette explication étant donné que l'ensemble des flux entrant et sortant n'a pas été mesuré en continu durant les quatre années d'expérimentation climatique. Alors que la plupart des études portant sur l'influence du climat sur la dynamique du COS étudient exclusivement les pertes de COS par respiration microbienne, nos résultats mettent en lumière la nécessité de mieux comprendre l'effet des changements climatiques sur la modification des taux de lessivage de la fraction MAOM liée aux argiles (très peu documenté) et sur le taux de DOC lixivié. Enfin, la fiabilité des calculs des stocks de COS a été remise en cause en raison du rôle de l'humidité du sol sur la densité apparente du sol. Cette remise en cause des valeurs des stocks de C du sol est mise en avant lors de la mise en place de suivi des stocks de C du sol ainsi que lors de l'évaluation des effets du mode de gestion pour l'utilisation des terres données (Lee et al, 2009 ; Arrouays et al 2003 ; Wendt et Hauser, 2013).

1) Limites de nos résultats et perspectives :

Cette thèse s'est appuyée sur une expérimentation de transplantation altitudinale de sol, mise en place dans le Jura suisse en 2009. Cette expérimentation a permis de simuler deux scénarios de changement climatique visant à réchauffer et assécher le climat. De plus le suivi de la dynamique saisonnière a offert l'opportunité d'étudier des variations de grande amplitude climatique comparées à la manipulation climatique mise en place (transplantation

de sols). Cependant on peut être amené à se demander si d'autres approches expérimentales permettant de simuler des changements climatiques ne nous auraient pas permis de mieux comprendre les mécanismes en jeu. La transplantation altitudinale de mésocosmes de sol est une approche lourde à mettre en place et qui nécessite de nombreux moyens logistiques. Cette méthode présente plusieurs avantages notables. Le premier avantage est de simuler un climat de manière totalement naturelle qui permet d'intégrer la grande variabilité temporelle du climat (heures, jours, mois, saisons et années). Cette hétérogénéité temporelle du climat peut être importante à intégrer car son impact sur le fonctionnement du sol peut être fort. Un autre avantage de la méthode de transplantation de sol est que cette méthode intègre l'ensemble des facteurs qui influent sur le climat (température, précipitations, vents, rayonnement solaire). Les différents effets de synergie ou d'interaction des variables climatiques sur le fonctionnement du sol sont pris en compte. De plus, une fois que la mise en place de la manipulation climatique est réalisée les coûts sont fortement réduits et l'entretien de la manipulation climatique nécessite peu de main d'œuvre. Cependant cette méthode présente également de nombreux désavantages. Un des premiers désavantages est le risque de contamination des mésocosmes par les communautés microbiennes et végétales présentes sur le site d'accueil. Ces contaminations peuvent grandement perturber la dynamique du système et son étude. Un deuxième désavantage de ce type d'approche provient du fait que la transplantation de sols ne permet pas un contrôle parfait des conditions climatiques simulées. En effet, l'ensemble des paramètres climatiques varie simultanément et il n'est pas possible d'étudier l'effet d'une variable climatique de manière isolée. Cette contrainte est importante car les effets des conditions climatiques sur la dynamique de la décomposition microbienne peuvent être nombreux et il est alors très difficile d'identifier les variables climatiques responsables des mécanismes en jeux. De plus, étant donné que le système est placé dans son environnement naturel, le suivi et la mesure des flux entrant et sortant s'avèrent beaucoup plus délicats et coûteux. Dans le cadre de la compréhension de la dynamique du COS, cette contrainte est importante car elle entrave la bonne compréhension des bilans de flux de C lors de l'expérimentation. Ceci est particulièrement vrai dans le cadre de cette thèse où nous sommes confrontés à cette contrainte en étant dans l'incapacité de démontrer les mécanismes responsables de la diminution en COS sous l'effet de la manipulation climatique. De plus, le prélèvement de sols et sa mise en place dans des lysimètres peut être un élément fortement perturbateur pour le fonctionnement du système étudié. Afin de mieux comprendre la dynamique du COS sous l'effet de la manipulation climatique, il aurait pu être intéressant de

simplifier le système en s'affranchissant de certaines variables. Ainsi, on pourrait imaginer la mise en place de transplants de sol où la végétation est retirée afin de s'affranchir du flux entrant de C dans le système, sur l'exemple des expérimentations de jachères nues (Barré et al., 2010). De plus, le couplage d'études *in situ* et en laboratoire aurait permis de mieux comprendre les effets du climat en testant par exemple des niveaux d'humidité croissants pour délimiter le seuil de stress hydrique toléré par les microorganismes du sol. Une étude de l'effet des cycles d'humectation/dessiccation des sols sur la quantité de DOC lixivié et d'argiles lessivées (perte de fraction MAOM) en laboratoire aurait été très intéressante. Outre les méthodes complémentaires de laboratoire, l'avènement de méthodes relativement récentes permettant de simuler des changements climatiques est très prometteur. Les méthodes d'expérimentation climatique de type « Ecotrons » permettent de confiner les écosystèmes dans des enceintes totalement ou partiellement étanches. Ce type d'infrastructure à l'interface expérimentation en laboratoire/*in situ* permet non seulement un contrôle des modifications environnementales appliquées mais également de mesurer des processus générés par les êtres vivants présents dans ces écosystèmes (flux de matière et d'énergie). Bien que ces méthodes soient coûteuses et peuvent ainsi limiter le temps d'expérimentation, elles offrent l'opportunité d'un contrôle des paramètres climatiques et des réponses inégalées et extrêmement prometteuses.

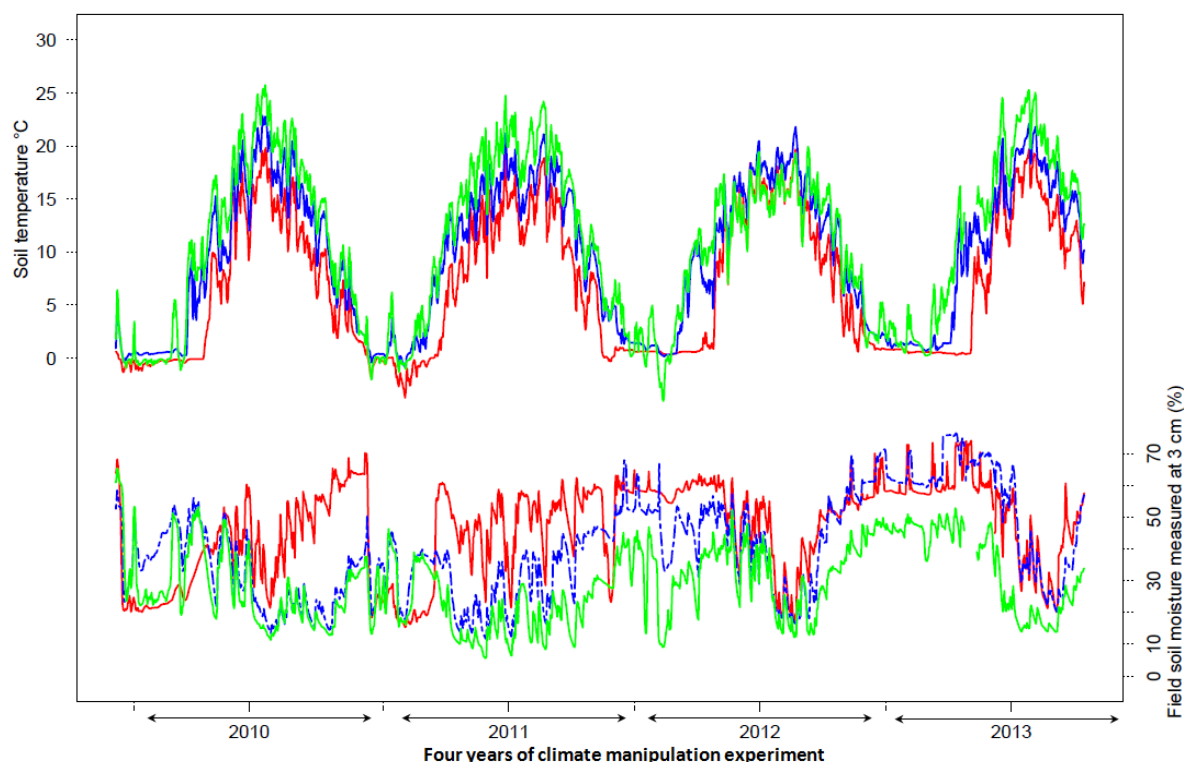


Figure.56. Variation interannuelle du climat lors de quatre premières années de la manipulation climatique mise en place dans cette thèse (Mountland). Les courbes rouges, bleues et vertes correspondent respectivement aux sites Arboretum (570m), Saint Georges (1010m) et Marchairuz (site contrôle, 1370m).

Une question importante concernant les résultats de notre étude est de savoir s'ils sont extrapolables dans le temps et l'espace. D'un point de vue temporel, notre étude peut être considérée comme une étude de moyen terme (5 ans). Extrapoler ces résultats sur des pas de temps plus longs (>10 ans) s'avère particulièrement risqué. Il est généralement constaté des temps de réponses supérieurs à dix années pour être en mesure d'observer des différences significatives de la structure des communautés microbiennes sous l'effet d'un climat simulé (cf. Chapitre 1). De plus le turnover moyen d'une molécule de C dans le sol est d'environ 50 ans (Schmidt et al, 2011) et il faudrait donc attendre ce nombre d'années pour estimer si les nouvelles conditions climatiques modifient le temps de stockage du COS. Les études de plus long terme sont à préconiser, cependant dans le cadre de la transplantation de sol, la contamination des transplants par les espèces du site d'accueil limite fortement la viabilité du système dans le temps. Concernant la dynamique saisonnière, la grande variabilité interannuelle des conditions climatiques (Fig.56; année 2012 notamment) montre qu'il est très

difficile d'extrapoler nos résultats à l'ensemble des années de l'expérimentation. Il serait très intéressant de regarder la dynamique saisonnière interannuelle de fonctionnement de ces écosystèmes de prairies subalpines, très peu renseignée dans la littérature (Waldrop et al 2006). Ceci est particulièrement vrai pour la saison estivale où le fonctionnement du sol est régi par l'apport d'eau (« hot spots », « hot moments », Kuzyakov et al, 2015), deux étés consécutifs pourraient donc avoir un fonctionnement du processus de décomposition enzymatique de la MOS totalement différent. Notre étude qui comporte seulement une date d'échantillonnage par saison présente ici une grande limite. Cependant, plusieurs échantillonnages au cours d'une même saison peuvent être lourds d'un point de vue logistique surtout si de nombreuses mesures microbiennes (mesures d'activités enzymatiques) doivent être réalisées. Concernant l'extrapolabilité de nos résultats à l'échelle spatiale, de nombreuses limites sont également à mettre en avant. Nos résultats obtenus sur des blocs de sol de 30 cm de profondeur et de 1 m² environ ne prennent en compte ni les effets de la topographie et de l'hétérogénéité spatiale ni ceux de la profondeur du sol. Nos observations suggèrent que l'augmentation du lessivage du COS lié aux argiles et du DOC lixivié entraînent une diminution de la concentration en C du sol sous l'effet de la manipulation climatique. Cependant, cette diminution ne serait peut-être pas observée en prenant en compte l'ensemble du profil de sol (au-delà des 30 cm des mésocosmes). En effet les argiles et le DOC pourraient s'accumuler en profondeur et se stabiliser (cas de l'évolution d'un calcosol/calcisol en brunisol eutrique (Jamagne, 2011)). De plus les effets de la topographie pourraient mener à des zones d'accumulation de ce C et des zones de pertes à l'échelle de la prairie. La plupart des études se focalisent sur les premiers horizons du sol étant donné les fortes contraintes liées à l'étude des profils plus profonds mais il faut tendre à une considération plus systématique de la dynamique des MOS au sein des profils de sol.

La forte hétérogénéité des milieux de montagne rend difficile la généralisation de nos résultats. En effet notre étude porte sur l'étude d'une prairie subalpine décarbonatée mais il serait très intéressant de réaliser le même type d'expérience sur des sols acides qui correspondent aux massifs alpins intérieurs. De plus, le mode de gestion des terres des prairies subalpines suisses pourraient influencer sur la réponse de la dynamique de décomposition microbienne et la dynamique du COS face aux changements climatiques. De manière générale, les résultats de cette thèse ont permis de mieux comprendre l'effet des conditions climatiques sur les facteurs de régulation de la décomposition microbienne et d'approfondir ainsi nos connaissances mécanistiques des phénomènes écologiques et biogéochimiques en

jeux. Des résultats inédits ont été obtenus sur la dynamique du carbone organique. Si les résultats concernant la dynamique du Corg ne sont pas généralisables et doivent être ainsi considérés dans leurs contextes d'expérimentation. Ils dévoilent la complexité des processus biogéochimiques à l'œuvre dans le sol et nous incites à mettre en place des expérimentations permettant le suivi en continu des processus et flux s'établissant dans les sols soumis à des changements climatiques.

Annexe1 : Base de données mondiale des
spectres de résonnances magnétiques
nucléaires du carbone (RMN ^{13}C) des
matières organiques du sol

I. Présentation de la technique de RMN du Carbone 13

Au cours des dernières décennies, la RMN ^{13}C est apparue comme une méthode attractive, non destructive, fournissant des informations détaillées sur la chimie du carbone organique. La RMN du carbone 13 (RMN ^{13}C), comme toutes les techniques basées sur la résonance magnétique nucléaire exploite les propriétés magnétiques des noyaux atomiques. Pour pouvoir être opérationnelle l'étude doit porter sur des atomes possédant un spin non nul. L'isotope du ^{13}C présente un spin de $\frac{1}{2}$ contrairement au ^{12}C qui présente un spin nul. Les atomes d'un échantillon sont soumis à un champ magnétique externe et excités par un rayonnement radiofréquence. Le retour à un état stable (temps de relaxation) dépend de l'environnement de l'atome. L'interprétation des données permettra de définir la nature et le nombre d'atomes voisins des noyaux étudiés, la conformation moléculaire ainsi que les distances interatomiques.

L'abondance du ^{13}C étant faible (de l'ordre de 1 % du ^{12}C), le signal est amplifié en utilisant la séquence de polarisation croisée (CP). Afin d'affiner les raies, l'échantillon est mis en rotation à l'angle magique (MAS). Cette technique CPMAS est la plus utilisée pour étudier la chimie des MOS solides (notamment des mélanges organo-minéraux). L'inconvénient majeur provient de l'incompatibilité de cette méthode avec la présence de minéraux ferromagnésiens. Il est en effet nécessaire de déminéraliser les sols ou d'isoler la MO avant analyse. Dans la plupart des cas, il s'agit d'une déminéralisation qui s'effectue à l'aide de l'acide fluorhydrique concentré à 2% ou 10% (Goncalves et al, 2003). Outre la dangerosité de cet acide, et l'outillage nécessaire à cette déminéralisation, la chimie de la MO pourrait être transformée au cours de la déminéralisation. L'effet des différents processus de déminéralisation utilisés a été encore peu étudié.

Dans le principe, un spectre de RMN ^{13}C peut être découpé en plusieurs régions correspondant à des groupes fonctionnels du carbone (Fig.X). Autrefois, couramment divisés en quatre régions (carbonyl, aromatic, O alkyl, and alkyl), les spectres sont désormais souvent divisés en sept régions (Fig.1). La proportion de l'aire du spectre située sous une région donnée (carboxyl par exemple) correspond à la proportion de ce groupe fonctionnel au sein de la MO étudiée. Outre l'utilisation brute des spectres RMN, leur combinaison avec le ratio C/N de l'échantillon permet de calculer la proportion des cinq ou six principaux composants biochimiques de la MOS (Carbohydate, Protéine, Lignine, Lipide, Carbonyle et charbons). Cette opération est rendue possible par l'utilisation du « molecular mixing model » développé

par Nelson et Baldock (2005). De plus la RMN ^{13}C peut être utilisée pour définir le degré d'oxydation du C. Ce paramètre a notamment été suggéré comme un indicateur potentiellement très pertinent dans l'étude de la stabilité de la MOS (Kleber et al, 2010).

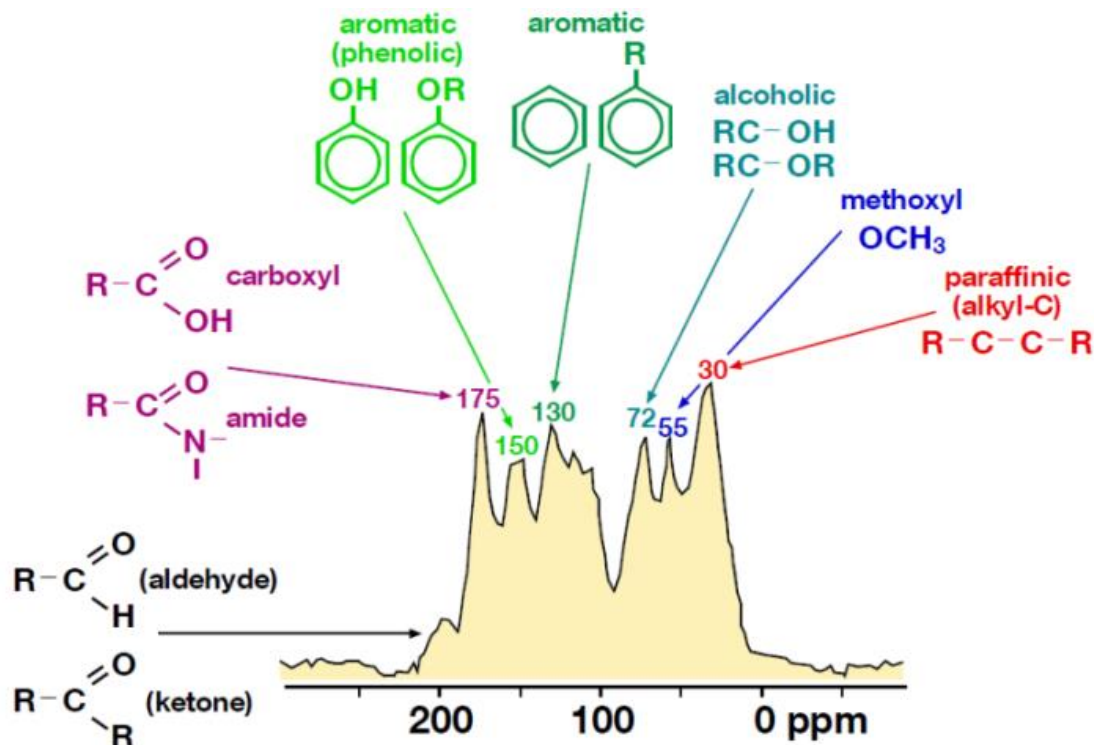


Figure 1 : Spectre de RMN ^{13}C ainsi que les groupes fonctionnels du carbone identifiables (Ingrid Kögel-Knabner, personal communication)

L'utilisation de la RMN permet une très bonne caractérisation chimique des MOS. Il s'agit d'une méthode très précise (exceptée pour la CPMAS), cependant le coût de l'analyse par échantillon est très élevé comparé à des techniques comme l'infrarouge. Cette technique est une technique non destructive où les mesures sont réalisées à température ambiante.

II. Mise en place d'une base de données mondiale sur les données de RMN du ^{13}C .

Un projet ambitieux et très prometteur se basant sur des données de RMN du ^{13}C a été mis en place au cours de cette thèse. Ce projet consiste à collecter l'ensemble des spectres de RMN du ^{13}C de la MOS, publiés dans des articles indexés. La digitalisation numérique permet la récupération des données spectrales et de les organiser en une base de données. Cette collecte

de données est couplée avec l'acquisition des métadonnées de l'échantillon sur lequel ont été réalisés les spectres (climat, coordonnées GPS, type d'échantillon). Trois grandes perspectives émergent de ce travail (Fig.2) : (1) Etablir une distribution mondiale de la composition de la MOS et du degré d'oxydation du C afin de regarder si ces deux variables évoluent entre grands types d'écosystèmes et ainsi évaluer le rôle que joue la chimie du carbone en fonction des caractéristiques du milieu ; (2) Etudier l'évolution de la chimie des MO au sein des différentes fractions du sol afin de regarder s'il existe un lien entre stabilité de la MO et sa composition chimique; (3) donner un libre accès à la base de données RMN ^{13}C des sols (à travers la base de données molTERdb sur les matières organiques des sols récemment développée par Irstea et le réseau européen ESF-MOLTER; <http://molterdb.irstea.fr/>) permettant ainsi à la communauté scientifique de tester de nouvelles hypothèses sur les mécanismes menant à la stabilisation du carbone organique. Ce projet, actuellement non abouti en raison de l'immensité des données à collecter est détaillé en annexe de cette thèse. A l'heure actuelle, **260 articles ont été traité** en ce qui concerne le processus de numérisation des spectres, ce qui représente environ **2750** spectres numérisés. Sur ces 2600 spectres **650 d'entre eux possèdent leurs métadonnées associées**. Enfin ce projet, mènerais dans un premier temps à une publication sur la mise a disposition de l'ensemble de cette base de donnée à la communauté scientifique sous forme de «data paper». Il s'en suivra également une méta-analyse des spectres C13 RMN du « bulksoil » et des fractions afin d'estimer la variation chimique de la MOS en fonction des conditions climatique, de la végétation et son degré de stabilisation

Trois grandes perspectives émergent de ce travail (Fig.2) : (1) fournir une distribution mondiale de la composition de la MOS et du Cox afin de regarder si ces deux variables évoluent entre grands types d'écosystèmes et ainsi évaluer le rôle que joue la chimie du carbone en fonction des caractéristiques du milieu ; (2) Accéder à la composition de la MO au sein des différentes fractions du sol afin de regarder si il existe un lien entre stabilité de la MO et sa composition chimique; (3) donner un libre accès à la base de données RMN ^{13}C des sols (à travers la base de données molTERdb sur les matières organiques des sols récemment développée par Irstea et le réseau européen ESF-MOLTER; <http://molterdb.irstea.fr/>) permettant ainsi à la communauté scientifique de tester de nouvelles hypothèses sur les mécanismes menant à la stabilisation du carbone organique.

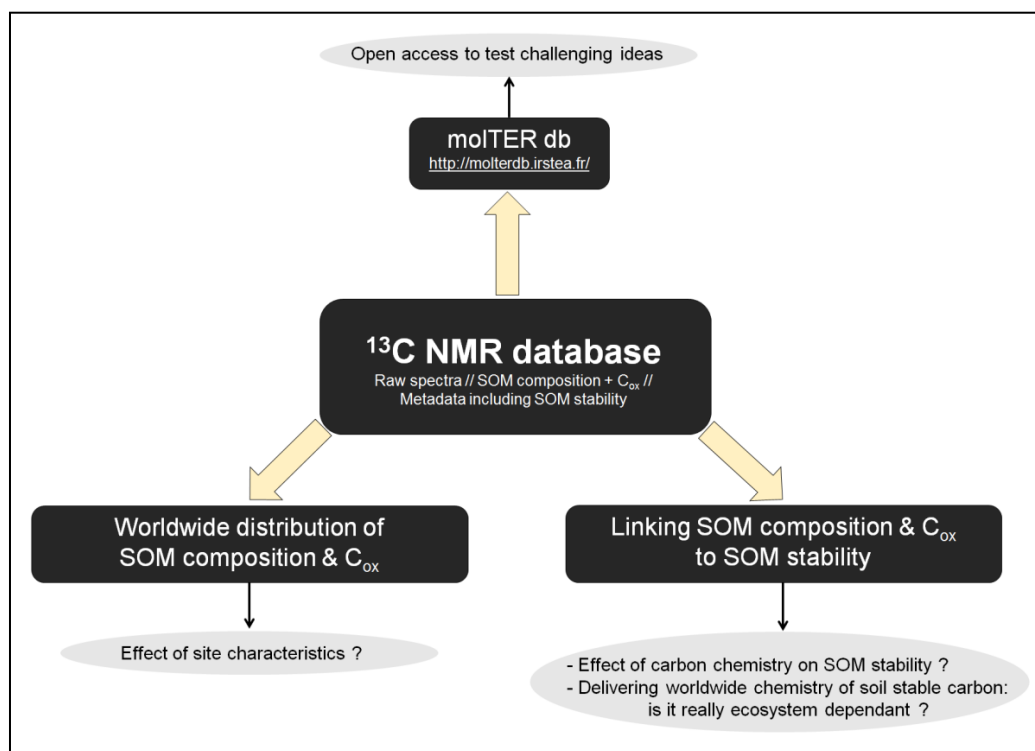


Figure 2: Perspectives de la réalisation de la base de données RMN ^{13}C

Ici, nous développons une méthode innovante consistant à (1) récolter les données de RMN ^{13}C sur la MOS à l'échelle mondiale obtenu avec la recherche des mots clés, « ^{13}C », « NMR », « soil organic matter » (scopus) et numériser tous les spectres de RMN ^{13}C publiés (477 articles de 1980 à 2013) ainsi que leurs métadonnées associées (localisation, climat, caractéristiques du sol, etc.) et (2) analyser de manière nouvelle ces données en appliquant le « Molecular Mixing Model » développé par Nelson & Baldock (Nelson and Baldock, 2005).

III. Collecte des spectres de ^{13}C RMN ainsi que de leurs métadonnées associées

477 articles ont été récupérés pour la période de 1980 à aujourd'hui grâce à une recherche bibliographique sur la base SCOPUS contenant les mots clés suivant : ^{13}C , NMR, soil organic matter. Pour chaque article, les coordonnées des spectres sont récupérées comme présenté sur la figure 3 à l'aide du logiciel « GetData Graph Digitizer ». Une fois cette étape réalisée, les valeurs brutes des spectres issues du logiciel GetData sont ensuite uniformisées grâce à une étape d'interpolation des données réalisée sous le logiciel R. À la fin de ce processus, les spectres sont stockés dans une base de données (MolterDatabase) et sont prêts à être exploités.

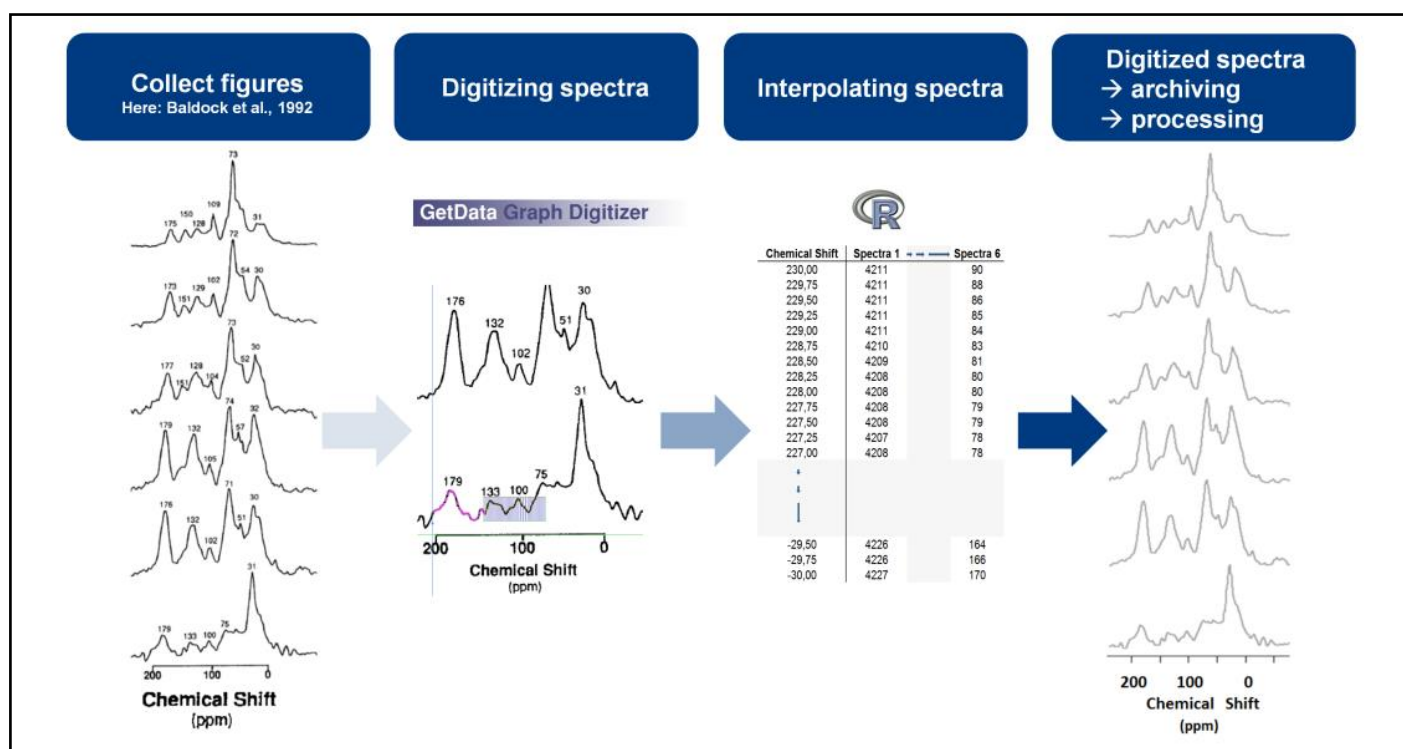


Figure 3 : Procédé d'acquisition des données des spectres RMN ^{13}C à partir des articles publiés

L'erreur associée à cette méthode d'acquisition des données a été calculée (RMSEP). Certains articles indiquent la proportion de chaque groupe fonctionnel du carbone obtenu après traitement du spectre RMN. Ainsi, nous pouvons calculer l'erreur entre la proportion des groupes fonctionnels donnés dans l'article et celle recalculée à l'aide des spectres numérisés. L'erreur moyenne de cette méthode a donc été calculée en utilisant 65 spectres provenant de 10 articles (de 1992 à 2011). La RMSEP calculée est inférieure à 2%.

Parallèlement à la numérisation des spectres, une collecte des informations reliées à chaque spectre est réalisée. Ainsi, chacun des spectres de la base de données est défini par cinq grandes catégories d'informations comme indiqué sur la figure 4.

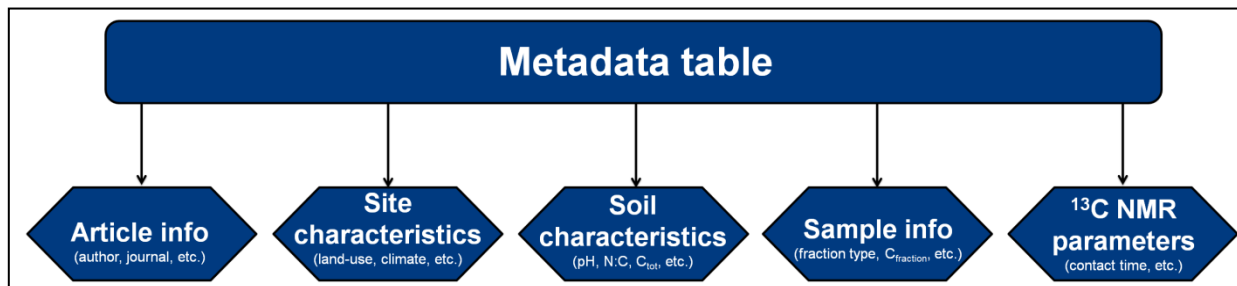


Figure 4 : Grandes catégories d'informations collectées pour chacun des spectres à partir des articles publiés collectés à partir des articles publiés

L'innovation de cette démarche provient également du fait de l'exploitation des données collectées pour aboutir à de nouvelles informations sur la chimie du carbone. Cette acquisition d'informations nouvelles est rendue possible grâce à l'utilisation du « Molecular Mixing Model » développé par Nelson et Baldock (Nelson and Baldock, 2005). Ce modèle permet de calculer la proportion des cinq principaux composants biochimiques de la MOS (Carbohydate, Protéine, Lignine, Lipide, Carbonyle) dans un échantillon, de même que l'état ou degré d'oxydation du carbone (C_{ox}) à partir de son spectre RMN ^{13}C ainsi que du ratio C/N. L'obtention de la composition et du C_{ox} de l'échantillon est acquise après résolution du système d'équations présenté figure 5, selon la méthode décrite par Cécillon et collègues (Cécillon et al., 2012).

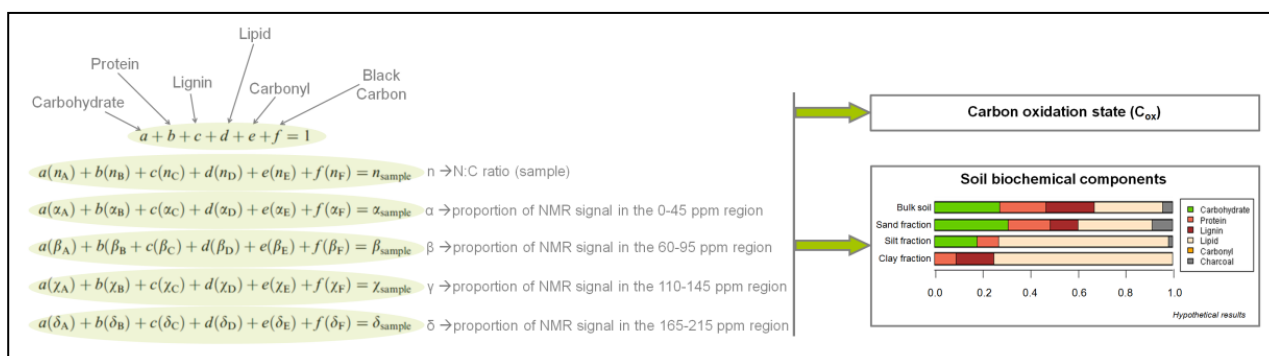


Figure 5 : Système d'équations du «Molecular Mixing Model » à résoudre pour l'obtention du C_{ox} et de la composition de la MOS

Références de l'annexe 1 :

- Mahieu, N., Powlson, D.S., Randall, E.W. (1999) Statistical analysis of published carbon-13 CPMAS NMR spectra of soil organic matter. *Soil Science Society of America Journal* 63, 307-319
- Nelson, P.N., Baldock, J.A. (2005) Estimating the molecular composition of a diverse range of natural organic materials from solid-state ^{13}C NMR and elemental analyses. *Biogeochemistry* 72, 1-34
- Cécillon, L., Certini, G., Lange, H., Forte, C., Strand, L.T. (2012) Spectral fingerprinting of soil organic matter composition. *Organic Geochemistry*, In press, doi: 10.1016/j.orggeochem.2012.02.006
- Gonçalves, C.N., Dalmolin, R.S., Dick, D.P., Knicker, H., Klamt, E., Kögel-Knabner, I., 2003. The effect of 10% HF treatment on the resolution of CPMAS ^{13}C NMR spectra and on the quality of organic matter in Ferralsols. *Geoderma* 116, 373–392. doi:10.1016/S0016-7061(03)00119-8
- Kleber, M. (2010) What is recalcitrant soil organic matter? *Environmental Chemistry* 7, 320-332
- Lützow, M. von., Kögel-Knabner, I. (2010) Opinion Response to the Concept paper : “ What is recalcitrant soil organic matter ?” by Markus Kleber. *Environmental Chemistry* 7, 333-335
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., et al. (2011) Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478, 49-56

Annexe 2 : Articles publiés comme co-auteur

I. Effects of two grass species on the composition of soil fungal communities

Mouhamadou B, **Puissant J**, Personeni E, Desclos-Theveniau M, Kastl EM, Schlöter M, Zinger L, Roy J, Geremia RA, Lavorel S (2013) Effects of two grass species on the composition of soil fungal communities. *Biol Fertil Soils* 49:1131–1139

Abstract

Many studies have shown effects of plants species on fungal communities, but these are often confounded with soil effects. Thus, the specific role of plant species in structuring rhizospheric and soil fungal communities is poorly described. Our study used microcosms in which plants were grown under artificial conditions to bridge this gap. Two perennial grasses dominating subalpine grasslands, *Festuca paniculata* and *Dactylis glomerata*, were grown at two levels of fertilization on standard soil. Fungal communities were determined by 454 pyrosequencing of the internal transcribed spacer 1 region. Among the fungal communities characterized by the primers used, original communities were associated to each plant species and also diverged between rhizosphere and bulk soils within each plant species, though there were no significant fertilization effects. Differences regarded global composition of the fungal communities and abundant molecular operational taxonomic units (MOTUs). Both plant species and location effects were reflected more in the abundance than in the composition of MOTUs. The observed differences in fungal communities coincide with differing strategies of plant root growth, with *D. glomerata* having greater root mass, length, and area than *F. paniculata*. Our study, by dissociating soil effects from plant effects, demonstrated that plant species exert a key control on soil fungi. We suggest that such effects may be linked to inter-specific differences in root traits and their consequences on nitrogen uptake.

Keywords

Plant species . Fungal community structure . Nitrogen fertilization . Plant growth strategy

II. Landscape-scale distribution patterns of earthworms inferred from soil DNA

Pansu, J., S. De Danieli, J. **Puissant**, J.-M. Gonzalez, L. Gielly, T. Cordonnier, L. Zinger, J.-J. Brun, P. Choler, P. Taberlet, and L. Cecillon. 2015. Landscape-scale distribution patterns of earthworms inferred from soil DNA. *Soil Biology & Biochemistry* 83:100-105.

Abstract

Assessing land-use effect on the diversity of soil biota has long been hampered by difficulties in collecting and identifying soil organisms over large areas. Recently, environmental DNA-based approaches coupled with next-generation sequencing were developed to study soil biodiversity. Here, we optimized a protocol based on soil DNA to examine the effects of land-use on earthworm communities in a mountain landscape. This approach allowed an efficient detection of earthworm diversity and highlighted a significant land-use effect on the distribution patterns of earthworms that was not revealed by a classical survey. Our results show that the soil DNA-based earthworm survey at the landscape-scale improves over previous approaches, and opens a way towards large-scale assessment of soil biodiversity and its drivers.

Keywords

Climate change; PLFA; Soil enzymes; Soil organic carbon; Mountain grasslands; Soil transplantation experiment

III. Peatland vascular plant functional types affect methane dynamics by altering microbial community structure

Robroek, B. J. M., Jassey, V. E. J., Kox, M. A. R., Berendsen, R. L., Mills, R. T. E., Cécillon, L., **Puissant, J.**, Meima-Franke, M., Bakker, P. A. H. M., Bodelier, P. L. E. (2015), Peatland vascular plant functional types affect methane dynamics by altering microbial community structure. *Journal of Ecology*, 103: 925–934. doi: 10.1111/1365-2745.12413

Summary

1. Peatlands are natural sources of atmospheric methane (CH₄), an important greenhouse gas. It is established that peatland methane dynamics are controlled by both biotic and abiotic conditions, yet the interactive effect of these drivers is less studied and consequently poorly understood.
2. Climate change affects the distribution of vascular plant functional types (PFTs) in peatlands. By removing specific PFTs, we assessed their effects on peat organic matter chemistry, microbial community composition and on potential methane production (PMP) and oxidation (PMO) in two microhabitats (lawns and hummocks).
3. Whilst PFT removal only marginally altered the peat organic matter chemistry, we observed considerable changes in microbial community structure. This resulted in altered PMP and PMO. PMP was slightly lower when graminoids were removed, whilst PMO was highest in the absence of both vascular PFTs (graminoids and ericoids), but only in the hummocks.
4. Path analyses demonstrate that different plant–soil interactions drive PMP and PMO in peatlands and that changes in biotic and abiotic factors can have auto-amplifying effects on current CH₄ dynamics.
5. *Synthesis*. Changing environmental conditions will, both directly and indirectly, affect peatland processes, causing unforeseen changes in CH₄ dynamics. The resilience of peatland CH₄ dynamics to environmental change therefore depends on the interaction between plant community composition and microbial communities.

Keywords:

methane;methanogenesis;methanotrophic communities;mid-infrared spectroscopy;pathway analysis;phospholipid fatty acid;plant–soil (below-ground) interactions; pmoA ;Sphagnum-dominated peatlands

Références bibliographiques du document de thèse

- Ainsworth, E.A. et Long, S.P., 2004. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE) ? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis , canopy properties and plant production to rising CO₂. *New Phytologist* 165 (2), 351-372
- Akagi, J. et Zsolnay, A., 2008. Effects of long-term de-vegetation on the quantity and quality of water extractable organic matter (WEOM): biogeochemical implications. *Chemosphere* 72, 1462–6. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.05.009
- Allison, S.D., Vitousek, P.M., 2005a. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 937–944. doi:10.1016/j.soilbio.2004.09.014
- Allison, S.D., 2005b. Cheaters, diffusion and nutrients constrain decomposition by microbial enzymes in spatially structured environments. *Ecology Letters* 8, 626–635. doi:10.1111/j.1461-0248.2005.00756.x
- Allison, S.D. et Treseder, K.K., 2008. Warming and drying suppress microbial activity and carbon cycling in boreal forest soils. *Global Change Biology* 14, 2898–2909. doi:10.1111/j.1365-2486.2008.01716.x
- Allison, S.D., Wallenstein, M.D. et Bradford, M.A., 2010. Soil-carbon response to warming dependent on microbial physiology. *Nature Geoscience* 3, 336–340. doi:10.1038/ngeo846
- Amador, J.A., Wang, Y., Savin, M.C. et Görres, J.H., 2000. Fine-scale spatial variability of physical and biological soil properties in Kingston, Rhode Island. *Geoderma* 98, 83–94
- Amelung, W. et Brodowski, S., 2008. Combining Biomarker with Stable Isotope Analyses for Assessing the Transformation and Turnover of Soil Organic Matter, 1st ed, *Advances in Agronomy*. Elsevier Inc. doi:10.1016/S0065-2113(08)00606-8
- Amundson, R. et Jenny, H., 1997. On a State Factor Model of Ecosystems. *BioScience* 47, 536–543.
- Amundson, R., 2001. The Carbon budget in soils. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 29, 535-562. doi: 10.1146/annurev.earth.29.1.535
- Angers, D.A. et Caron, J., 1998. Plant-induced changes in soil structure: Processes and feedbacks. *Biogeochemistry* 4, 55-72
- Arft, A.M., Walker, M.D., Gurevitch, J., Alatalo, J.M., Bret-Harte, M.S., Dale, M., Diemer, M., Gugerli, F., Henry, G.H.R., Jones, M.H., Hollister, R.D., Jónsdóttir, I.S., Laine, K.,

- Lévesque, E., Marion, G.M., Molau, U., Mølgaard, P., Nordenhäll, U., Raszhivin, V., Robinson, C.H., Starr, G., Stenström, A., Stenström, M., Totland, Ø., Turner, P.L., Walker, L.J., Webber, P.J., Welker, J.M. et Wookey, P.A., 1999. Responses of tundra plants to experimental warming: meta-analysis of the international tundra experiment. *Ecological Monographs* 69, 491-511.
- Aronson, E.L. et McNulty, S.G., 2009. Appropriate experimental ecosystem warming methods by ecosystem, objective, and practicality. *Agricultural and Forest Meteorology* 149, 1791–1799. doi:10.1016/j.agrformet.2009.06.007
- Arrouays D., Feller C., Jolivet C., Saby N., Andreux F., Bernoux M. et Cerri C., 2003. Estimation de stocks de carbone organique des sols à différentes échelles d'espace et de temps. *Etude et gestion des Sols* 10, 347-355
- Association française pour l'étude du sol, 2008. Référentiel pédologique. Edition Quae: 480 p
- Alster C.J., German D.P., Lu Y. et Allison S.D., 2013. Microbial enzymatic responses to drought and to nitrogen addition in a southern California grassland. *Soil Biology & Biochemistry* 64, 68-79
- Bachmann, J., Guggenberger, G., Baumgartl, T., Ellerbrock, R.H., Urbanek, E., Goebel, M.-O., Kaiser, K., Horn, R. et Fischer, W.R., 2008. Physical carbon-sequestration mechanisms under special consideration of soil wettability. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 171, 14–26. doi:10.1002/jpln.200700054
- Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S. et Vivanco, J.M., 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology* 57, 233-266
- Baisden, W.T., Amundson, R., Cook, A.C. et Brenner, D.L., 2002. Turnover and storage of C and N in five density fractions from California annual grassland surface soils. *Global Biogeochemical Cycles* 16 (4) 1117. doi:10.1029/2001GB001822
- Baldock, J. et Skjemstad, J., 2000. Role of the soil matrix and minerals in protecting natural organic materials against biological attack. *Organic Geochemistry* 31 (7-8), 697–710
- Baldock, J.A., 2007. Composition and Cycling of Organic Carbon in Soil. *Nutrient Cycling in Terrestrial Ecosystems. Soil Biology* 10, 1-35

- Baldrian, P., Merhautová, V., Petránková, M., Cajthaml, T. et Snajdr, J., 2010. Distribution of microbial biomass and activity of extracellular enzymes in a hardwood forest soil reflect soil moisture content. *Applied Soil Ecology* 46, 177-182
- Baldrian, P., Šnajdr, J., Merhautová, V., Dobiášová, P., Cajthaml, T., Valášková, V., 2013. Responses of the extracellular enzyme activities in hardwood forest to soil temperature and seasonality and the potential effects of climate change. *Soil Biology and Biochemistry* 56, 60–68. doi:10.1016/j.soilbio.2012.01.020
- Baptist, F., Yoccoz, N.G. et Choler, P., 2010. Direct and indirect control by snow cover over decomposition in alpine tundra along a snowmelt gradient. *Plant and Soil* 328 (1-2), 397-410
- Batjes, N. H., 1996. Total carbon and nitrogen in the soils of the world. *European Journal of Soil Science* 47, 151-163. doi:10.1111/j.1365-2389.1996.tb01386.x
- Bardgett, R., 2005. *The biology of soil : a community and ecosystem approach*. Oxford University Press : 245 p
- Bardgett, R.D., Bowman, W.D., Kaufmann, R. et Schmidt, S.K., 2005. A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends in ecology & evolution* 20, 634–41. doi:10.1016/j.tree.2005.08.005
- Bardgett R. et Wardle D. A., 2010. *Aboveground-belowground linkages : biotic interactions, ecosystem processes and global change*. Oxford University Press : 301 p
- Baronti, S., Lanini, G.M., Berretti, F., Stefani, P., Rosato, E., Manca, G., Agnelli, A.E., Ciccioni, P. et Raschi, A., 2005. The GREEN GRASS experiment on mountain grasslands in the Italian Alps. *Geophysical Research Abstracts* 7, 07945
- Barré, P., Eglin, T., Christensen, B.T., Ciais, P., Houot, S., Kätterer, T., van Oort, F., Peylin, P., Poulton, P.R., Romanenkov, V. et Chenu, C., 2010. Quantifying and isolating stable soil organic carbon using long-term bare fallow experiments. *Biogeosciences* 7, 3839-3850. doi : 10.5194/bg-7-3839-2010
- Barré, P., Fernández-Ugalde, O., Virto, I., Velde, B. et Chenu, C., 2014. Impact of phyllosilicate mineralogy on organic carbon stabilization in soils : incomplete knowledge and exciting prospects. *Geoderma* 235-236, 382-395. doi : 10.1016/j.geoderma.2014.07.029

- Batjes, N. H., 1996. Total carbon and nitrogen in the soils of the world. *European Journal of Soil Science* 47, 151-163. doi:10.1111/j.1365-2389.1996.tb01386.x
- Beare, M.H., Coleman, D.C., Crossley, D.A., Hendrix, P.F. et Odum, E.P., 1995. A hierarchical approach to evaluating the significance of soil biodiversity to biogeochemical cycling. *Plant and Soil* 170 (1), 5-22
- Bell, C. W., Fricks, B. E., Rocca, J. D., Steinweg, J. M., McMahon, S. K., et Wallenstein, M. D., 2013. High-throughput fluorometric measurement of potential soil extracellular enzyme activities. *Journal of visualized experiments: JoVE* 81, 50961
- Bell, T.H., Klironomos, J.N. et Henry, H.A.L., 2010. Seasonal Responses of Extracellular Enzyme Activity and Microbial Biomass to Warming and Nitrogen Addition. *Soil Science Society of America Journal* 74, 820. doi:10.2136/sssaj2009.0036
- Bell, T.H. et Henry, H.A.L., 2011. Fine scale variability in soil extracellular enzyme activity is insensitive to rain events and temperature in a mesic system. *Pedobiologia* 54, 141-146
- Bello, F., Lavorel, S., Lavergne, S., Albert, C.H., Boulangeat, I., Mazel, F. et Thuiller, W., 2013. Hierarchical effects of environmental filters on the functional structure of plant communities : a case study in the French Alps. *Ecography* 36 (3), 393-402. doi : 10.1111/j.1600-0587.2012.07438.x
- Beniston, M., Diaz, H.F. et Bradley, R.S., 1997. Climatic change at high elevation sites: an overview. *Climatic Change* 36 (3-4), 233-251
- Beniston, M., 2006. Mountain Weather and Climate: A General Overview and a Focus on Climatic Change in the Alps. *Hydrobiologia* 562, 3-16. doi:10.1007/s10750-005-1802-0
- Beniston M., 2009. Decadal-scale changes in the tails of probability distribution functions of climate variables in Switzerland. *International Journal of Climatology* 29 (10): 1362-1368
- Bérard, A., Sassi, M. B., Renault, P., et Gros, R., 2012. Severe drought-induced community tolerance to heat wave. An experimental study on soil microbial processes. *Journal of Soils and Sediments*, 12(4), 513-518
- Berg, B. et McClaugherty, C., 2008. Plant Litter. Decomposition, Humus Formation, Carbon Sequestration. Edition Springer: 315 p
- Berthelin, J., Munier-Lamy, C., Wedraogo, F.X., Belguy G. et Bonne, M., 1990. Mécanismes microbiens d'acidification et d'altération intervenant dans les sols bruns acides et les

- podzols forestiers. Synthèse et discussion de travaux antérieurs. *Science du Sol* 28 (4), 301-318
- Bissonnais, Y. et Souder, C., 1995. Mesurer la stabilité structurale des sols pour évaluer leur sensibilité à la battance et à l'érosion. *Etude et Gestion des sols* 2 (1), 43-56
- Björk, R.G., Björkman, M.P., Andersson, M.X., Klemetsson, L., 2008. Temporal variation in soil microbial communities in Alpine tundra. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 266–268. doi:10.1016/j.soilbio.2007.07.017
- Boddy, E., Hill, P.W., Farrar, J. et Jones, D.L., 2007. Fast turnover of low molecular weight components of the dissolved organic carbon pool of temperate grassland field soils. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 827–835
- Bossuyt, H., Six, J. et Hendrix, P.F., 2005. Protection of soil carbon by microaggregates within earthworm casts. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 251–258. doi:10.1016/j.soilbio.2004.07.035
- Bowers, S.A. et Hanks, R.J. 1965. Reflection of radiant energy from soils. *Soil Science*, 100, 130–138
- Bradford, M. a., Watts, B.W. et Davies, C. a., 2010. Thermal adaptation of heterotrophic soil respiration in laboratory microcosms. *Global Change Biology* 16, 1576–1588. doi:10.1111/j.1365-2486.2009.02040.x
- Bronick, C.J. et Lal, R., 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma* 124, 3–22. doi:10.1016/j.geoderma.2004.03.005
- Brooks, P.D., McKnight, D. et Elder, K., 2005. Carbon limitation of soil respiration under winter snowpacks: Potential feedbacks between growing season and winter carbon fluxes. *Global Change Biology* 11, 231–238. doi:10.1111/j.1365-2486.2004.00877.x
- Budge, K., Leifeld, J., Hiltbrunner, E. et Fuhrer, J., 2010. Litter quality and pH are strong drivers of carbon turnover and distribution in alpine grassland soils. *Biogeosciences Discussions* 7, 6207–6242. doi:10.5194/bgd-7-6207-201
- Budge, K., Leifeld, J., Hiltbrunner, E. et Fuhrer, J., 2011a. Alpine grassland soils contain large proportion of labile carbon but indicate long turnover times. *Biogeosciences* 8, 1911–1923. doi:10.5194/bg-8-1911-2011

- Budge, K., Leifeld, J., Egli, M. et Fuhrer, J., 2011b. Soil microbial communities in (sub)alpine grasslands indicate a moderate shift towards new environmental conditions 11 years after soil translocation. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1148–1154. doi:10.1016/j.soilbio.2011.02.001
- Burns, R.G., 1978. *Soil enzymes*. Academic Press, London: 380 p
- Burns, R.G., DeForest, J.L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R.L., Stromberger, M.E., Wallenstein, M.D., Weintraub, M.N. et Zoppini, A., 2013. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry* 58, 216–234. doi:10.1016/j.soilbio.2012.11.009
- Brooks, P.D. et Williams, M.W., 1999. Snowpack controls on nitrogen cycling and export in seasonally snow-covered catchments. *Hydrological Processes*, 13(14), 2177-2190
- Bruun, S., Gren, G.I., Christensen, B. T., et Jensen, L.S., 2009. Measuring and modelling continuous quality distributions of soil organic matter. *Biogeosciences Discussions*, 6, 9045-9082
- Calderón, F.J., Reeves, J.B., Collins, H.P. et Paul, E. a., 2011. Chemical Differences in Soil Organic Matter Fractions Determined by Diffuse-Reflectance Mid-Infrared Spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal* 75, 568. doi:10.2136/sssaj2009.0375
- Caldwell, B.a., 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia* 49, 637–644. doi:10.1016/j.pedobi.2005.06.003
- Cambardella, C.A. et Elliott, E.T., 1994. Carbon and nitrogen dynamics of soil organic matter fractions from cultivated grass-land soils. *Soil Science Society of America Journal* 58, 123–130
- Carvalhais, N., Forkel, M., Khomik, M., Bellarby, J., Jung, M., Migliavacca, M., Mingquan, M., Saatchi, S., Santoro, M., Thurner, M., Weber, U., Ahrens, B., Beer, C., Cescatti, A., Randerson, J.T. et Reichstein, M., 2014. Climate in Terrestrial Ecosystems. *Nature* 514, 213–217. doi:10.1038/nature13731
- Célerier, J., 2008. Caractérisation moléculaire et dynamique de la matière organique de compost (déchets verts, biodéchets) dans un sol. Thèse de doctorat, Université de Poitiers : 327 p

- Celik I., Ortas I. et Kilic S., 2004. Effects of compost, mycorrhiza, manure and fertilizer on some physical properties of a Chromoxerert soil. *Soil and Tillage Research* 78 (1): 59-67
- Cécillon, L., Mello, N. a., Danieli, S. et Brun, J.-J., 2010. Soil macroaggregate dynamics in a mountain spatial climate gradient. *Biogeochemistry* 97, 31–43. doi:10.1007/s10533-009-9341-9
- Chapin III, F.S., Shaver, G.R., Giblin, A.E., Nadelhoffer, K.J. et Laundre, J.A., 1995. Responses of Arctic Tundra to Experimental and Observed Changes in Climate. *Ecology* 76, 694-711
- Chenu, C. et Plante A. F., 2006. Clay-sized organo-mineral complexes in a cultivation chronosequence : revisiting the concept of the ‘primary organio-mineral complex’. *European Journal of Soil Science* 57 (4), 596-607
- Conant, R.T., Ryan, M.G., Ågren, G.I., Birge, H.E., Davidson, E. a., Eliasson, P.E., Evans, S.E., Frey, S.D., Giardina, C.P., Hopkins, F.M., Hyvönen, R., Kirschbaum, M.U.F., Lavallee, J.M., Leifeld, J., Parton, W.J., Megan Steinweg, J., Wallenstein, M.D., Martin Wetterstedt, J.Å. et Bradford, M. a., 2011. Temperature and soil organic matter decomposition rates - synthesis of current knowledge and a way forward. *Global Change Biology* 17, 3392–3404. doi:10.1111/j.1365-2486.2011.02496.x
- Costanza, R. et Daly, H.E., 1992. Natural capital and sustainable development. *Conservation biology* 6 (1), 37-46
- Costanza R., d'Arge R., de Groot R., Farber S., Grasso M., Hannon B., Naeem S., Limburg K., Paruelo J., O'Neill R.V., Raskin R., Sutton P. et van den Belt M., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 387 : 253-260
- Davet, P., 1996. Vie microbienne du sol et production végétale. Editions INRA: 377 p
- Davidson, E.A. et Janssens, I.A., 2006. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440, 165-173. doi: 10.1038/nature04514
- Denef, K., Six, J., Paustian, K., et Merckx, R., 2001. Importance of macroaggregate dynamics in controlling soil carbon stabilization: short-term effects of physical disturbance induced by dry–wet cycles. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(15), 2145-2153
- Dequiedt, S., Saby, N.P.A., Lelievre, M., Jolivet, C., Thioulouse, J., Toutain, B., Arrouays, D., Bispo, A., Lemanceau, P. et Ranjard, L., 2011. Biogeographical patterns of soil

- molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Global Ecology and Biogeography* 20 (4), 641–652. doi: 10.1111/j.1466-8238.2010.00628.x
- Deslippe, J.R., Egger, K.N. et Henry, G.H.R., 2005. Impacts of warming and fertilization on nitrogen-fixing microbial communities in the Canadian High Arctic. *FEMS microbiology ecology* 53, 41–50. doi:10.1016/j.femsec.2004.12.002
- Djukic, I., Zehetner, F., Watzinger, A., Horacek, M. et Gerzabek, M.H., 2013. In situ carbon turnover dynamics and the role of soil microorganisms therein: a climate warming study in an Alpine ecosystem. *FEMS microbiology ecology* 83, 112–24. doi:10.1111/j.1574-6941.2012.01449.x
- Dominati, E., Patterson, M. et Mackay, A., 2010. A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecological Economics* 69, 1858–1868. doi:10.1016/j.ecolecon.2010.05.002
- Duchaufour, P., 1997. *Abrégé de pédologie: Sol, végétation, environnement*. 5ème édition. Edition Masson: 291 p
- Dufour, A.F. Gadallah, H.H. Wagner, A.G. et Buttler, A., 2006. "Plant species richness and environmental heterogeneity in a mountain landscape: effects of variability and spatial configuration." *Ecography* 29(4), 573-584
- Dungait, J.A.J., Hopkins, D.W., Gregory, A.S. et Whitmore, A.P., 2012. Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. *Global Change Biology* 18, 1781–1796. doi:10.1111/j.1365-2486.2012.02665.x
- Edwards, A.C., Scalenghe, R. et Freppaz, M., 2007. Changes in the seasonal snow cover of alpine regions and its effect on soil processes: A review. *Quaternary International* 162-163, 172–181. doi:10.1016/j.quaint.2006.10.027
- Eglin, T., Ciais, P., Piao, S.L., Barré, P., Bellassen, V., Cadule, P., Chenu, C., Gasser, T., Koven, C., Reichstein, M. et Smith, P., 2010. Historical and future perspectives of global soil carbon response to climate and land-use changes. *Tellus B* 62, 700–718. doi:10.1111/j.1600-0889.2010.00499.x
- Erman, D.O.P.G. et Hacon, S.T.S.C., 2011. Substrate concentration and enzyme allocation can affect rates of microbial decomposition. *Ecology* 92, 1471–1480

- Feller, C. et Chenu, C., 2012. Les inter-actions bio-organo-argileuses et la stabilisation du carbone dans les sols. *Etude et Gestion des Sols* 19 (3 et 4), 235-248
- Fenner N., Freeman C. et Reynolds B., 2005. Observations of a seasonally shifting thermal optimum in peatland carbon-cycling processes: implications for the global carbon cycle and soil enzyme methodologies. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1814–21
- Frey, S.D., Drijber, R., Smith, H., Melillo, J., 2008. Microbial biomass, functional capacity, and community structure after 12 years of soil warming. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2904–2907. doi:10.1016/j.soilbio.2008.07.020
- Friedlingstein, P., Cox, P., Betts, R., Bopp, L., von Bloh, W., Brovkin, V., Cadule, P., Doney, S., Eby, M., Fung, I., Bala, G., John, J., Jones, J., Joos, J., Kato, T., Kawamiya, M., Knorr, W., Lindsay, K., Matthews, H.D., Raddatz, T., Rayner, P., Reick, C., Roeckner, E., Schnitzler, K.-G., Schnur, R., Strassmann, K., Weaver, A. J., Yoshikawa, C. et Zeng, N., 2006. Climate-Carbon Cycle Feedback Analysis: Results from the C4MIP Model Intercomparison. *Journal Climate* 19, 3337-3353. doi : 10.1175/JCLI3800.1
- Gavazov, K.S., 2013. Subalpine pasture-woodlands in a changing climate : the role of land use type in ecosystem resistance to simulated climate change. Thèse de doctorat. Laboratoire des systèmes Ecologiques. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse : 156 p
- Gavazov, K., Peringer, A., Buttler, A., Gillet, F. et Spiegelberger, T., 2013a. Dynamics of Forage Production in Pasture-woodlands of the Swiss Jura Mountains under Projected Climate Change Scenarios. *Ecology and Society* 18, art38. doi:10.5751/ES-04974-180138
- Gavazov, K., Spiegelberger, T. et Buttler, A., 2013b. Transplantation of subalpine wood-pasture turfs along a natural climatic gradient reveals lower resistance of unwooded pastures to climate change compared to wooded ones. *Oecologia* 174, 1425–35. doi:10.1007/s00442-013-2839-9
- Geisseler, D., Horwath, W.R. et Scow, K.M., 2011. Soil moisture and plant residue addition interact in their effect on extracellular enzyme activity. *Pedobiologia* 54, 71-78
- Genxu, W., Ju, Q., Guodong, C. et Yuanmin, L., 2002. Soil organic carbon pool of grassland soils on the Qinghai-Tibetan Plateau and its global implication. *Science of the Total Environment* 291, 207–217

- German, D.P., Weintraub, M.N., Grandy, A.S., Lauber, C.L., Rinkes, Z.L. et Allison, S.D., 2011. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1387–1397. doi:10.1016/j.soilbio.2011.03.017
- GESSOL, 2015. Fonctions environnementales et gestion du patrimoine sol. Communiqué du Conseil Scientifique du Programme GESSOL. Ministère de l'Ecologie, du développement durable et de l'Energie
- Girard, M.-C., Walter, C., Rémy, J.-C., Berthelin, J. et Morel, J.-L., 2011. Sols et environnement. 2ème édition. Dunod : 881 p
- Gleixner, G., Czimczik, C. I., Kramer, C., Lühker, C. et Schmidt, M.W. I., 2001. Plant compounds and their turnover and stability as soil organic matter. In Schulze E.-D., Heimann M., Harrison S.P., Holland E., Lloyd J., Prentice I.C. et al. (Eds.). *Global Biogeochemical Cycles in the Climate System*. San Diego: Academic Press: 201-215
- Guigue, J., Mathieu, O., Lévêque, J., Mounier, S., Laffont, R., Maron, P. a., Navarro, N., Chateau, C., Amiotte-Suchet, P. et Lucas, Y., 2014. A comparison of extraction procedures for water-extractable organic matter in soils. *European Journal of Soil Science* 65, 520–530. doi:10.1111/ejss.12156
- Gobat, J.-M., Aragno, M. et Matthey, W., 2010. Le sol vivant. Bases de pédologie-Biologie des sols. 3 ème édition revue et augmentée. Presses polytechniques et universitaires romandes : 817 p
- Gobiet, A., Kotlarski, S., Beniston, M., Heinrich, G., Rajczak, J. et Stoffel, M., 2014. 21st century climate change in the European Alps-A review. *Science of the Total Environment* 493, 1138–1151. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.07.050
- Godbold, D.L., Hoosbeek, M.R., Lukac, M., Cotrufo, M.F., Janssens, I. a., Ceulemans, R., Polle, A., Velthorst, E.J., Scarascia-Mugnozza, G., Angelis, P., Miglietta, F. et Peressotti, A., 2006. Mycorrhizal Hyphal Turnover as a Dominant Process for Carbon Input into Soil Organic Matter. *Plant and Soil* 281, 15–24. doi:10.1007/s11104-005-3701-6
- Gonçalves, C.N., Dalmolin, R.S., Dick, D.P., Knicker, H., Klamt, E. et Kögel-Knabner, I., 2003. The effect of 10% HF treatment on the resolution of CPMAS ¹³C NMR spectra and on the quality of organic matter in Ferralsols. *Geoderma* 116, 373–392. doi:10.1016/S0016-7061(03)00119-x

- Gregorich, E.G., Beare, M.H., McKim, U.F. et Skjemstad, J.O., 2006. Chemical and Biological Characteristics of Physically Uncomplexed Organic Matter. *Soil Science Society of America Journal* 70, 975–985. doi:10.2136/sssaj2005.0116
- Groffman, P. M., Driscoll C. T., Fahey T. J., Hardy J. P., Fitzhugh R. D. et Tierney G. L., 2001. Colder soils in a warmer world: a snow manipulation study in a northern hardwood forest ecosystem. *Biogeochemistry* 56 (2), 135-150
- Grogan, P. et Chapin lii, F.S., 2000. Initial effects of experimental warming on above-and belowground components of net ecosystem CO₂ exchange in arctic tundra. *Oecologia* 125 (4), 512-520
- Gunal, H. et Ransom, M.D., 2006. Clay illuviation and calcium carbonate accumulation along a precipitation gradient in Kansas. *Catena* 68 (1), 56-69
- Harte, J. et Shaw, R., 1995. Shifting Dominance Within a Montane Vegetation Community : Results of a Climate – Warming Experiment. *Science* 267 (5199), 876-880. doi : 10.1126/science.267.5199.876
- Hartley, A.E., Neill, C., Melillo, J.M.,Crabtree, R. Bowles, F.P., 1999. Plant performance and soil nitrogen mineralization in response to simulated climate Change in Subarctic Dwarf Shrub Heath. *Oikos* 86 (2), 331-343
- Harrysson Drotz, S., Tilston, E.L., Sparrman, T., Schleucher, J., Nilsson, M. et Öquist, M.G., 2009. Contributions of matric and osmotic potentials to the unfrozen water content of frozen soils. *Geoderma* 148, 392–398. doi:10.1016/j.geoderma.2008.11.007
- Heckman, K., Welty-Bernard, A., Rasmussen, C. et Schwartz, E., 2009. Geologic controls of soil carbon cycling and microbial dynamics in temperate conifer forests. *Chemical Geology* 267:12–23
- Henry, H.A.L., 2013. Reprint of “Soil extracellular enzyme dynamics in a changing climate.” *Soil Biology and Biochemistry* 56, 53–59. doi:10.1016/j.soilbio.2012.10.022
- Hinsinger, P., Bengough, A.G., Vetterlein, D. et Young, I.M., 2009. Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. *Plant and Soil* 321, 117–152.
- Hitz, C., Egli, M. et Fitze, P., 2001. Below-ground and above-ground production of vegetational organic matter along a climosequence in alpine grasslands. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 164, 389–397

- Hoffmann, A. a., Camac, J.S., Williams, R.J., Papst, W., Jarrad, F.C., Wahren, C.-H., 2010. Phenological changes in six Australian subalpine plants in response to experimental warming and year-to-year variation. *Journal of Ecology* 98, 927–937. doi:10.1111/j.1365-2745.2010.01667.x
- Hollister, R.D., Webber, P.J., Nelson, F.E. et Tweedie, C.E., 2006. Soil Thaw and Temperature Response to Air Warming Varies by Plant Community: Results from an Open-top Chamber Experiment in Northern Alaska. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 38, 206–215. doi:10.1657/1523-0430(2006)38[206:STATRT]2.0.CO;2
- Huang, P., Wang, M. et Chiu, C., 2005. Soil mineral–organic matter–microbe interactions: Impacts on biogeochemical processes and biodiversity in soils. *Pedobiologia* 49, 609–635. doi:10.1016/j.pedobi.2005.06.006
- Ineson, P., Taylor, K., Harrison, A.F., Poskitt, J., Benham, D.G., Tipping, E. et Woof, C., 1998. Effects of climate change on nitrogen dynamics in upland soils. 1. A transplant approach. *Global Change Biology* 4 (2), 143-153
- IPCC, 2013. Intergovernmental Panel on Climate Change. *Climate Change 2013 : The Physical Science Basis*. IPCC Working Group I Contribution to AR5
- IUSS Working Group WRB, 2014. *World Reference Base for Soil Resources, 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps (PDF) (3rd ed.)*. Rome: FAO. ISBN 978-92-5-108370-3. Retrieved 29 August 2014
- Jamagne, M., 2011. *Grands paysages pédologiques de France*. Éditions Quae : 535 p
- Jeffery, S., Gardi, C., Jones, A., Montanarella, L., Marmo, L., Miko, L., Ritz, K., Peres, G., Römbke, J. et van Der Putten, W. H. (eds.), 2010. *Atlas européen de la biodiversité du sol*. Commission européenne, Bureau des publications de l'Union européenne, Luxembourg : 128 p
- Jenny, H., 1941. *Factors of Soil Formation : A System of Quantitative Pedology*. Science/Earth Sciences : 299 p
- Jenny, H., 1994. *Factors of Soil Formation: A System of Quantitative Pedology* : 301 p
- Jing, X., Wang, Y., Chung, H., Mi, Z., Wang, S., Zeng, H. et He, J.-S., 2013. No temperature acclimation of soil extracellular enzymes to experimental warming in an alpine grassland

- ecosystem on the Tibetan Plateau. *Biogeochemistry* 117, 39–54. doi:10.1007/s10533-013-9844-2
- Jobbágy, E.G. et Jackson, R.B., 2000. The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological Applications* 10, 423–436. doi :10.1890/1051-0761(2000)010
- John, B., Yamashita, T., Ludwig, B. et Flessa, H., 2005. Storage of organic carbon in aggregate and density fractions of silty soils under different types of land use. *Geoderma* 128, 63–79
- Johnson, M.J., Lee, K.Y. et Scow, K.M., 2003. DNA fingerprinting reveals links among agricultural crops, soil properties, and the composition of soil microbial communities. *Geoderma* 114, 279–303
- Jonasson, S., Michelsen, A., Schmidt, I. K. et Nielsen, E.V., 1999. Response in microbes and plants to changed temperature, nutrient, and light regimes in the Arctic. *Ecology* 80, 1828–1843
- Jones, C.G., Lawton, J.H., Shachak, M., 1994. Organisms as Ecosystem Engineers. *Oikos* 69, 373–386
- Juarez, S., 2013. Régulations biotiques et abiotiques de la décomposition des matières organiques des sols. Thèse de doctorat, AgroParisTech
- Kaiser, K. et Guggenberger, G., 2000. The role of DOM sorption to mineral surfaces in the preservation of organic matter in soils. *Organic Geochemistry* 31 (7-8), 711-725
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J.-H., Michalzik, B. et Matzner, B., 2000. Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: a review. *Soil Science* 165, 277–304
- Kalbitz, K., Schmerwitz, J., Schwesig, D. et Matzner, E., 2003. Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties. *Geoderma* 113, 273–291. doi:10.1016/S0016-7061(02)00365-8
- Kalbitz, K., Schwesig, D., Rethemeyer, J. et Matzner, E., 2005. Stabilization of dissolved organic matter by sorption to the mineral soil. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 1319–1331. doi:10.1016/j.soilbio.2004.11.028

- Kaplan, J.O., Krumhardt, K.M. et Zimmermann, N.E., 2012. The effects of land use and climate change on the carbon cycle of Europe over the past 500 years. *Global Change Biology* 18, 902–914. doi:10.1111/j.1365-2486.2011.02580.x
- Kelleher, B.P. et Simpson, A.J., 2006. Humic Substances in Soils: Are They Really Chemically Distinct? *Environmental Science & Technology* 40 (15), 4605–4611
- Kemmitt, S.J., Lanyon, C.V., Waite, I.S., Wen, Q., Addiscott, T.M., Bird, N.R.A., O'Donnell, A.G. et Brookes, P.C., 2008. Mineralization of native soil organic matter is not regulated by the size, activity or composition of the soil microbial biomass—a new perspective. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 61–73. doi:10.1016/j.soilbio.2007.06.021
- Hentschel, K., Borken, W., et Matzner, E., 2007. Leaching losses of inorganic N and DOC following repeated drying and wetting of a spruce forest soil. *Plant and Soil*, 300(1-2), 21-34
- Kleber, M., 2010. Response to the Opinion paper by Margit von Lützow and Ingrid Kögel-Knabner on “ What is recalcitrant and Ingrid Ko soil organic matter ?” by Markus Kleber. *Environmental Chemistry* 7, 336–337. doi:10.1071/EN10086
- Koch, A., McBratney, A., Adams, M., Field, D., Hill, R., Crawford, J., Minasny, B., Lal, R., Abbott, L., O'Donnell, A., Angers, D., Baldock, J., Barbier, E., Binkley, D., Parton, W., Wall, D.H., Bird, M., Bouma, J., Chenu, C., Flora, C.B., Goulding, K., Grunwald, S., Hempel, J., Jastrow, J., Lehmann, J., Lorenz, K., Morgan, C. L., Rice, C.W., Whitehead, D., Young, L. et Zimmermann, M., 2013. Soil Security: Solving the Global Soil Crisis. *Global Policy* 4 (4), 434-441
- Koelmans, A.A., Jonker, M.T.O., Cornelissen, G., Bucheli, T.D., van Noort, P.C.M., Gustafsson, Ö., 2006. Black carbon: The reverse of its dark side. *Chemosphere* 63, 365–377. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.08.034
- Kögel-Knabner, I., 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 34 (2), 139-162
- Koide, R.T. et Kabir, Z., 2000. Extraradical hyphae of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* can hydrolyse organic phosphate. *New Phytol* 148, 511-517
- Körner, C., 2007. The use of “altitude” in ecological research. *Trends in ecology & evolution* 22, 569–74. doi:10.1016/j.tree.2007.09.006

- Körner, C., 2003. *Alpine Plant Life : Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York : 359 p
- Kramer, C., Trumbore, S., Fröberg, M., Cisneros Dozal, L.M., Zhang, D., Xu, X., Santos, G.M. et Hanson, P.J., 2010. Recent (<4 year old) leaf litter is not a major source of microbial carbon in a temperate forest mineral soil. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 1028–1037. doi:10.1016/j.soilbio.2010.02.021
- Kulmatiski, A. et Beard, K.H., 2004. Reducing sampler error in soil research. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 383–385
- Kuzyakov, Y. et Blagodatskaya, E., 2015. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biology and Biochemistry* 83, 184–199. doi:10.1016/j.soilbio.2015.01.025
- Lal, R., 2004. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma* 123, 1–22. doi:10.1016/j.geoderma.2004.01.032
- Lambers, H., Mougel, C., Jaillard, B. et Hinsinger P., 2009. Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: an evolutionary perspective. *Plant and Soil* 321, 83–115. doi:10.1007/s11104-009-0042-x
- Lavelle, P., Bignell, D., Lepage, M., Wolters, V., Roger, P., Ineson P.O.W.H., Heal, O.W. et Dhillon, S., 1997. Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. *European Journal of Soil Science* 33, 159-193
- Lavelle, P. et Spain, A., 2001. *Soil Ecology*. Kluwer Academic Publishers: 263 p
- Lefèvre, R., Barré, P., Moyano, F.E., Christensen, B.T., Bardoux, G., Eglin, T., Girardin, C., Houot, S., Kätterer, T., van Oort, F. et Chenu, C., 2014. Higher temperature sensitivity for stable than for labile soil organic carbon – Evidence from incubations of long-term bare fallow soils. *Global Change Biology* 20 (2), 633-640
- Lehmann, J., Kinyangi, J. et Solomon, D., 2007. Organic matter stabilization in soil microaggregates: implications from spatial heterogeneity of organic carbon contents and carbon forms. *Biogeochemistry* 85, 45–57. doi:10.1007/s10533-007-9105-3
- Lehmann J., Solomon D., Kinyangi J., Dathe L., Wirick S. et Jacobsen C., 2008. Spatial complexity of soil organic matter forms at nanometer scales. *Nature Geoscience* 1 (4), 238-242

- Leifeld, J. et Kögel-Knabner, I., 2005. Soil organic matter fractions as early indicators for carbon stock changes under different land-use? *Geoderma* 124 (1-2), 143–155. doi:10.1016/j.geoderma.2004.04.009
- Leifeld, J. et Fuhrer, J., 2009a. Long-term management effects on soil organic matter in two cold, high-elevation grasslands: clues from fractionation and radiocarbon dating. *European Journal of Soil Science* 60, 230–239. doi:10.1111/j.1365-2389.2008.01111.x
- Leifeld, J., Zimmermann, M., Fuhrer, J. et Conen, F., 2009b. Storage and turnover of carbon in grassland soils along an elevation gradient in the Swiss Alps. *Global Change Biology* 15, 668–679. doi:10.1111/j.1365-2486.2008.01782.x
- Leigh, J., Hodge, A. et Fitter, A.H., 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitro-gen to their host plant from organic material. *New Phytologist* 181, 199–207. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02630.x
- Linderman, R. L., 1942. The Trophic-Dynamic Aspect of Ecology. *Ecology* 23 (4), 399–417
- Liptzin, D., Williams, M.W., Helmig, D., Seok, B., Filippa, G., Chowanski, K. et Hueber, J., 2009. Process-level controls on CO₂ fluxes from a seasonally snow-covered subalpine meadow soil, Niwot Ridge, Colorado. *Biogeochemistry* 95, 151–166. doi:10.1007/s10533-009-9303-2
- Liu, A. Hamel C., Elmi A., Costa C., Ma B. et Smith D. L., 2002. Concentrations of K, Ca and Mg in maize colonised by arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. *Canadian Journal of Soil Science* 82(3), 271–278
- Liu, X., Xiao, X., Yang, G. et Ren, T., 2011. Water Retention Curves of Soil Aggregates as Affected by Long-Term Fertilizer Management. *Soil Science* 176, 537–542. doi:10.1097/SS.0b013e31822af68d
- Löffler, U.C.M., Cypionka, H. et Löffler, J., 2008. Soil microbial activity along an arctic-alpine altitudinal gradient from a seasonal perspective. *European Journal of Soil Science* 59, 842–854. doi:10.1111/j.1365-2389.2008.01054.x
- Lorenz, K., Lal, R., Preston, C.M. et Nierop, K.G.J., 2007. Strengthening the soil organic carbon pool by increasing contributions from recalcitrant aliphatic bio(macro)molecules. *Geoderma* 142, 1–10. doi:10.1016/j.geoderma.2007.07.013

- Luo, Y., 2007. Terrestrial Carbon–Cycle Feedback to Climate Warming. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 38, 683–712. doi:10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095808
- Manzoni, S. et Porporato, A. Soil carbon and nitrogen mineralization : Theory and models across scales. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 1355-1379
- Marion, G.M., Henry, G.H.R., Freckman, D.W., Johnstone, J., Jones, G., Jones, M.H., Lévesque, E., Molau, U., Molgaard, P., Parsons, A.N., Svoboda, J. et Virginia, R.A., 1997. Open-top designs for manipulating field temperature in high-latitude ecosystems. *Global Change Biology* 3 (S1), 20-32. doi : 10.1111/j.1365-2486.1997.gcb136.x
- Marschner, B. et Bredow, A., 2002. Temperature effects on release and ecologically relevant properties of dissolved organic carbon in sterilised and biologically active soil samples. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 459–466
- Marschner, B. et Kalbitz, K., 2003. Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma* 113, 211–235. doi:10.1016/S0016-7061(02)00362-2
- Marschner, B., Brodowski, S., Dreves, A., Gleixner, G., Gude, A., Grootes, P.M., Hamer, U., Heim, A., Jandl, G., Ji, R., Kaiser, K., Kalbitz, K., Kramer, C., Leinweber, P., Rethemeyer, J., Schäffer, A., Schmidt, M.W.I., Schwark, L. et Wiesenberger, G.L.B., 2008. How relevant is recalcitrance for the stabilization of organic matter in soils? *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 171, 91–110. doi:10.1002/jpln.200700049
- Martin, J.P., et Haider, K., 1971. Microbial activity in relation to soil humus formation. *Soil Science*, 111(1), 54-63
- Martin, M.P., Wattenbach, M., Smith, P., Meersmans, J., Jolivet, C., Boulonne, L., et Arrouays, D., 2011. Spatial distribution of soil organic carbon stocks in France. *Biogeosciences*, 8(5), 1053-1065
- Martinsen, V., Mulder, J., Austrheim, G., Myrnes, A., 2011. Carbon storage in low-alpine grassland soils: effects of different grazing intensities of sheep. *European Journal of Soil Science* 62, 822–833. doi:10.1111/j.1365-2389.2011.01393.x
- Marx, M., Wood, M., Jarvis, S., 2001. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1633–1640

- McClain, M.E., Boyer, E.W., Dent, C.L., Gergel, S.E., Grimm, N.B., Groffman, P.M., Hart, S.C., Harvey, J.W., Johnston, C. a., Mayorga, E., McDowell, W.H., Pinay, G., 2003. Biogeochemical Hot Spots and Hot Moments at the Interface of Terrestrial and Aquatic Ecosystems. *Ecosystems* 6, 301–312. doi:10.1007/s10021-003-0161-9
- MEA, 2005. Millennium Ecosystem Assessment. Summary for decision makers. In *Ecosystems and Human Well-being : Synthesis*, 1-24. Washington, D. C. : Island Press
- Meehl, G.A., Stocker, T.F., Collins, W.D., Friedlingstein, P., Gaye, A.T., Gregory, J.M., Kitoh, A., Knutti R., Murphy J.M., Noda A., Raper S.C.B., Watterson I.G., Weaver A.J. and Zhao Z.-C., International Panel on Climate Change, 2007. *Climate Change 2007 : The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press
- Meyer, S., Leifeld, J., Bahn, M. et Fuhrer, J., 2011. Free and protected soil organic carbon dynamics respond differently to abandonment of mountain grassland. *Biogeosciences Discussions* 8, 9943–9976. doi:10.5194/bgd-8-9943-2011
- Meyer, S., Leifeld, J., Bahn, M. et Fuhrer, J., 2012a. Free and protected soil organic carbon dynamics respond differently to abandonment of mountain grassland. *Biogeosciences* 9, 853–865. doi:10.5194/bg-9-853-2012
- Meyer, S., Leifeld, J., Bahn, M. et Fuhrer, J., 2012b. Land-use change in subalpine grassland soils: Effect on particulate organic carbon fractions and aggregation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 175, 401–409. doi:10.1002/jpln.201100220
- Mikutta, R., Kleber, M., Torn, M.S. et Jahn, R., 2006. Stabilization of Soil Organic Matter: Association with Minerals or Chemical Recalcitrance? *Biogeochemistry* 77, 25–56
- Millard, P. et Singh, B.K., 2010. Does grassland vegetation drive soil microbial diversity? *Nutrient Cycling Agroecosystems* 88: 147–158
- Mills, R.T.E., Gavazov, K.S., Spiegelberger, T., Johnson, D., Buttler, A., 2014. Diminished soil functions occur under simulated climate change in a sup-alpine pasture, but heterotrophic temperature sensitivity indicates microbial resilience. *The Science of the total environment* 473-474, 465–72. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.12.071

- Mote, P.W., Hamlet, A.F., Clark, M.P. et Lettenmaier, D.P., 2005. Declining mountain snowpack in western North America. *Bulletin of the American meteorological Society* 86 (1), 39-49
- Mouhamadou, B., Puissant, J., Personeni, E., Desclos-Theveniau, M., Kastl, E.M., Schlöter, M., Zinger, L., Roy, J., Geremia, R. a., Lavorel, S., 2013. Effects of two grass species on the composition of soil fungal communities. *Biology and Fertility of Soils* 49, 1131–1139. doi:10.1007/s00374-013-0810-x
- Moyano, F.E., Vasilyeva, N. A., Bouckaert, L., Cook, F., Craine, J.M., Don, A., Epron, D., Formanek, P., Franzluebbers, A., Ilstedt, U., Katterer, T., Orchard, V., Reichstein, M., Rey, A., Ruamps, L. S., Subke, J., Thomsen, I. K. et Chenu, C., 2012. The moisture response of soil heterotrophic respiration: Interaction with soil properties. *Biogeosciences* 9 (3), 1173-1182
- Nannipieri, P., Ceccherini, M. T., Landi, L., Pietramellara, G. L. et Renella, G., 2003. Measurement of intracellular and extracellular enzyme activity in soil. In: *Preserving Soil Quality and Soil Biodiversity. The Role of Surrogate Indicators*. M. C. Lobo & J. J. Ibañez (Eds.), Madrid, Spain, IMIA/CCM-CSIC
- Nannipieri, P., Giagnoni, L., Renella, G., Puglisi, E., Ceccanti, B., Masciandaro, G., Fornasier, F., Moscatelli, M.C., Marinari, S., 2012. Soil enzymology: classical and molecular approaches. *Biology and Fertility of Soils* 48, 743–762. doi:10.1007/s00374-012-0723-x
- NF X31-501, Soil quality, 1992. Physical methods - Measurement of the bulk density of an undisturbed soil sample - Method of the cylinder. AFNOR
- NF ISO 10694, Soil quality., 1995. Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis). AFNOR
- NF ISO 13878, Soil quality., 1995. Determination of total nitrogen content by dry combustion ("elemental analysis"). AFNOR
- NF ISO 10693, Soil quality., 1995. Determination of carbonate content. Volumetric method. AFNOR
- NF X31-107, Soil quality, 2003. Determination of particle size distribution of the soil particles - Method pipetted. AFNOR

- NF ISO 10390, Soil quality, 2005. Determination of pH. AFNOR
- Norby, R.J., Edwards, N.T., Riggs, J.S., Abner C., Wullschleger H. et Gunderson C., 1997. Temperature-controlled open-top chambers for global change research. *Global Change Biology* 3, 359–367
- Olk, D. C., 2006. A Chemical Fractionation for Structure-Function Relations of Soil Organic Matter in Nutrient Cycling. *Soil Science Society of America Journal* 70 (3), 1013-1022. doi 10.2136/sssaj2005.0108
- Öquist, M.G. et Laudon, H., 2008. Winter soil frost conditions in boreal forests control growing season soil CO₂ concentration and its atmospheric exchange. *Global Change Biology* 14, 2839–2847. doi:10.1111/j.1365-2486.2008.01669.x
- Pan, Y., Birdsey, R.A., Fang, J., Houghton, R., Kauppi, P.E., Kurz, W.A., Phillips, O.L., Shvidenko, A., Lewis, S.L., Canadell, J.G., Ciais, P., Jackson, R.B., Pacala, S.W., McGuire, A.D., Piao, S., Rautiainen, A., Sitch, S. et Hayes, D., 2011. A Large and Persistent Carbon Sink in the World's Forests. *Science* 333 (6045), 988-993. doi : 10.1126/science.1201609
- Parton, W.J., Brookes, P.C., Coleman et K., Jenkinson, D.S., 1987. Dynamics of C, N, S, and P in grassland soils: a model. *Biogeochemistry* 5, 109–131
- Pascual, N., Cécillon, L., Mathieu, O., Hénault, C., Sarr, A., Lévêque, J., Farcy, P., Ranjard, L. et Maron, P.-A., 2010. In situ dynamics of microbial communities during decomposition of wheat, rape, and alfalfa residues. *Microbial ecology* 60, 816–828
- Paterson, E., 2009a. Comments on the regulatory gate hypothesis and implications for C-cycling in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 1352–1354. doi:10.1016/j.soilbio.2009.02.012
- Paterson, E., Midwood, A.J., Millard, P., 2009b. Through the eye of the needle: a review of isotope approaches to quantify microbial processes mediating soil carbon balance. *The New phytologist* 184, 19–33. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.03001.x
- Pengerud, A., Cécillon, L., Johnsen, L.K., Rasse, D.P. et Strand, L.T., 2013. Permafrost Distribution Drives Soil Organic Matter Stability in a Subarctic Palsa Peatland. *Ecosystems* 16, 934–947. doi:10.1007/s10021-013-9652-5

- Peterjohn, W.T., Melillo, J.M., Steudler, P.A., Newkirk, K.M., Bowles, F.P. et Aber, J.D., 1994. Responses of trace gas fluxes and N availability to experimentally elevated soil temperatures. *Ecological Applications* 4 (3), 617-625
- Piccolo, A., 2001. The supramolecular structure of humic substances. *Soil Science* 166, 810–832
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., Core, T.R., 2014. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-117, <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>
- Pinney, M.L., Westerhoff, P.K., Baker, L., 2000. Transformations in dissolved organic carbon through constructed wetlands. *Water Research* 34, 1897–1911
- Plante, A.F., Feng, Y. et McGill, W.B., 2002. A modeling approach to quantifying soil macroaggregate dynamics. *Canadian Journal of Soil Science* 82 (2), 181-190
- Plante A.F., Fernandez J.M. et Leifeld J., 2009. Application of thermal analysis techniques in soil science. *Geoderma* 153 (1), 1-10
- Poirier, N., Sohi, S., Gaunt, J., Mahieu, N., Randall, E., Powlson, D. et Evershed, R., 2005. The chemical composition of measurable soil organic matter pools. *Organic Geochemistry* 36, 1174–1189. doi:10.1016/j.orggeochem.2005.03.005
- Powlson, D.S., Whitmore, A.P. et Goulding, K.W.T., 2011. Soil carbon sequestration to mitigate climate change: a critical re-examination to identify the true and the false. *European Journal of Soil Science* 62, 42–55. doi:10.1111/j.1365-2389.2010.01342.x
- Preston, C.M. et Schmidt, M.W.I., 2006. Black (pyrogenic) carbon: a synthesis of current knowledge and uncertainties with special consideration of boreal regions. *Biogeosciences* 3, 397–420. doi:10.5194/bg-3-397-2006
- Ramsey, P.W., Rillig, M.C., Feris, K.P., Holben, W.E., Gannon, J.E., 2006. Choice of methods for soil microbial community analysis: PLFA maximizes power compared to CLPP and PCR-based approaches. *Pedobiologia* 50, 275–280. doi:10.1016/j.pedobi.2006.03.003
- Rasse, D. P., Rumpel, C. et Dignac, M.-F., 2005. Is soil carbon mostly root carbon? Mechanisms for a specific stabilisation. *Plant and Soil* 269, 341–356. doi: 10.1007/s11104-004-0907-y

- Rees, R.M. et Parker, J., 2005. Filtration increases the correlation between water extractable organic carbon and soil microbial activity. *Soil Biology & Biochemistry* 37, 2240–2248. doi:10.1016/j.soilbio.2005.03.024
- Reeves, J. B., 2012. Mid-infrared spectral interpretation of soils: Is it practical or accurate? *Geoderma* 189, 508-513
- Rillig, M.C. et Mummey, D.L., 2006. Mycorrhizas and soil structure. *The New phytologist* 171, 41–53. doi:10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x
- Rinnan, R., Michelsen, A., Bååth, E. et Jonasson, S., 2007. Fifteen years of climate change manipulations alter soil microbial communities in a subarctic heath ecosystem. *Global Change Biology* 13, 28–39. doi:10.1111/j.1365-2486.2006.01263.x
- Robroek, B.J.M., Heijboer, A., Jassey, V.E.J., Hefting, M.M., Rouwenhorst, T.G., Buttler, A., Bragazza, L., 2012. Snow cover manipulation effects on microbial community structure and soil chemistry in a mountain bog. *Plant and Soil* 369, 151–164. doi:10.1007/s11104-012-1547-2
- Saenger, A., 2013. Caractérisation et stabilité de la matière organique du sol en contexte montagnard calcaire: proposition d'indicateurs pour le suivi de la qualité des sols à l'échelle du paysage. Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier Grenoble I. 268 p
- Saenger, A., Cécillon, L., Sebag, D. et Brun, J.-J., 2013. Soil organic carbon quantity, chemistry and thermal stability in a mountainous landscape: A Rock–Eval pyrolysis survey. *Organic Geochemistry* 54, 101–114. doi:10.1016/j.orggeochem.2012.10.008
- Saenger, A., Cécillon, L., Poulenard, J., Bureau, F., De Daniéli, S., Gonzalez, J.-M. et Brun, J.-J., 2015. Surveying the carbon pools of mountain soils: A comparison of physical fractionation and Rock-Eval pyrolysis. *Geoderma* 241-242, 279–288. doi:10.1016/j.geoderma.2014.12.001
- Saiya-Cork, K.R., Sinsabaugh, R.L. et Zak, D.R., 2002. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 1309-1315
- Santonja, M., 2014. Relations biodiversité-fonctionnement dans le contexte du changement climatique. Application à la décomposition des litières en région méditerranéenne. Thèse de doctorat, Université d'Aix-Marseille : 238 p

- Sardans, J., Peñuelas, J., 2010. Soil Enzyme Activity in a Mediterranean Forest after Six Years of Drought. *Soil Science Society of America Journal* 74, 838. doi:10.2136/sssaj2009.0225
- Schindlbacher, A., Rodler, A., Kuffner, M., Kitzler, B., Sessitsch, A., Zechmeister-Boltenstern, S., 2011. Experimental warming effects on the microbial community of a temperate mountain forest soil. *Soil biology & biochemistry* 43, 1417–1425. doi:10.1016/j.soilbio.2011.03.005
- Schmidli, J. et Frei, C., 2005. Trends of heavy precipitation and wet and dry spells in Switzerland during the 20th century. *International Journal of Climatology* 25 (6), 753–771. Doi : 10.1002/joc.1179
- Schmidt, M.W.I., Rumpel, C., Kögel-Knabner, I., 1999. Evaluation of an ultrasonic dispersion procedure to isolate primary organomineral complexes from soils. *European Journal of Soil Science* 50, 87–94
- Schmidt, M.W.I. et Noack, A.G., 2000. Black carbon in soils and sediments: Analysis, distribution, implications, and current challenges. *Global Biogeochemical Cycles* 14, 777–793
- Schmidt, S.K., Costello, E.K., Nemergut, D.R., Cleveland, C.C., Reed, S.C., Weintraub, M.N., Meyer, a. F., Martin, a. M., 2007. Biogeochemical consequences of rapid microbial turnover and seasonal succession in soil. *Ecology* 88, 1379–1385. doi:10.1890/06-016
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I. a., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D. a. C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478, 49–56. doi:10.1038/nature10386
- Schuur, E.A.G., Bockheim, J., Canadell, J.G., Euskirchen, E., Field, C.B., Goryachkin, S.V., Hagemann, S., Kuhry, P., Lafleur, P.M., Lee, H., Mazhitova, G., Nelson, F.E., Rinke, A., Romanovsky, V.E., Shiklomanov, N., Tarnocai, C., Venevsky, S., Vogel, J.G. et Zimov, S.A., 2008. Vulnerability of Permafrost Carbon to Climate Change: Implications for the Global Carbon Cycle. *BioScience* 58, 701–714
- Schulz, E., 2002. Influence of extreme management on decomposable soil organic matter pool. *Archiv Acker, Pflanze und Boden* 48, 101–105

- Scott-Denton, L.E., Rosenstiel, T.N., Monson, R.K., 2006. Differential controls by climate and substrate over the heterotrophic and rhizospheric components of soil respiration. *Global Change Biology* 12, 205–216. doi:10.1111/j.1365-2486.2005.01064.x
- Shaver, G.R., Johnson, L.C., Cades, D.H., Murray, G., Laundre, J.A., Rastetter, E.B., Nadelhoffer, K.J. et Giblin, A.E., 1998. Biomass and CO₂ flux in wet sedge tundra : responses to nutrients, temperature, and light. *Ecological Monographs* 68 (1), 75-97
- Shaver, G.R., Canadell, J., Chapin III, F.S., Gurevitch, J., Harte J., Henry, G., Ineson, P., Jonasson, S., Melillo, J., Pitelka, L. et Rustad, L., 2000. Global Warming and Terrestrial Ecosystems : A Conceptual Framework for Analysis Ecosystem responses to global warming will be complex and varied. Ecosystem warming experiments hold great potential for providing insights on ways terrestrial ecosystems will respond to upcoming decades of climate change. Documentation of initial conditions provides the context for understanding and predicting ecosystem responses. *BioScience* 50 (10), 871-882
- Shukla, G. et Varma, A., 2010. *Soil Enzymology*. Edition Springer Science & Business Media: 384 p
- Sinsabaugh, R.L., Lauber, C.L., Weintraub, M.N., Ahmed, B., Allison, S.D., Crenshaw, C., Contosta, A.R., Cusack, D., Frey, S., Gallo, M.E., Gartner, T.B., Hobbie, S.E., Holland, K., Keeler, B.L., Powers, J.S., Stursova, M., Takacs-Vesbach, C., Waldrop, M.P., Wallenstein, M.D., Zak, D.R. et Zeglin, L.H., 2008. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology letters* 11, 1252–64. doi:10.1111/j.1461-0248.2008.01245.x
- Sinsabaugh, R.L., Hill, B.H. et Follstad Shah, J.J.F., 2009. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. *Nature* 462, 795–8. doi:10.1038/nature0863
- Sinsabaugh, R.L., 2010. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 391–404. doi:10.1016/j.soilbio.2009.10.014
- Six, J., Conant, R.T., Paul, E.A. et Paustian, P.K., 2002. Stabilization mechanisms of soil organic matter: implications for C-saturation of soils. *Plant and Soil* 241 (2), 155-176
- Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., Denef, K., 2004. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research* 79, 7–31. doi:10.1016/j.still.2004.03.008

- Sjögersten, S., Alewell, C., Cécillon, L., Hagedorn, F., Jandl, R., Leifeld, J., Martinsen, V., Schindlbacher, A., Sebastià, M.-T. et Van Miegroet, H., 2011. Mountain Soils in a Changing Climate – Vulnerability of Carbon Stocks and Ecosystem Feedbacks. *Soil Carbon in Sensitive European Ecosystems: From Science to Land Management*, 118-148
- Sollins, P., Homann, P. et Caldwell, B. A., 1996. Stabilization and destabilization of soil organic matter: mechanisms and controls. *Geoderma* 74, 65–105
- Sollins, P., Swanston, C. et Kramer, M., 2007. Stabilization and destabilization of soil organic matter—a new focus. *Biogeochemistry* 85, 1–7. doi:10.1007/s10533-007-9099-x
- Steinweg, J.M., Dukes, J.S. et Wallenstein, M.D., 2012. Modeling the effects of temperature and moisture on soil enzyme activity: linking laboratory assays to continuous field data. *Soil Biology and Biochemistry* 55, 85-92
- Steinweg, J.M., Dukes, J.S., Paul, E.A. et Wallenstein, M.D., 2013. Microbial responses to multi-factor climate change: effects on soil enzymes. *Frontiers in microbiology* 4, 146. doi:10.3389/fmicb.2013.00146
- Stöhr, D., 2007. Soils - heterogenous at the microscale. In Wieser, G. & Tausz, M. (Eds.) *Trees at their upper limit - Treelife limitation at the Alpine Timberline*, Springer, Chapter 5, 37-56
- Stoner, E.R. et Baumgardner, M.F. 1981. Characteristic variations in reflectance of surface soils. *Soil Science Society of America Journal*, 45, 1161–1165
- Strickland, M.S. et Rousk, J., 2010. Considering fungal: bacterial dominance in soils – Methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biology and Biochemistry* 42 (9), 1385–1395. doi:10.1016/j.soilbio.2010.05.007
- Sun, S., Peng, L., Wang, G., Wu, Y., Zhou, J., Bing, H., Yu, D. et Luo, J., 2013. An improved open-top chamber warming system for global change research 47, 1–11
- Sutton, R. et Sposito, G., 2005. Critical Review Molecular Structure in Soil Humic Substances : The New View. *Environmental Science & Technology* 39, 9009–9015
- Tabatabai, M.A., 1994. Soil enzymes *Methods of soil analysis*. Part 2 (2): 775-833
- Tabatabai, M. et Dick, W., 2002. Enzymes in soil: research and developments in measuring activities. In: Burns, R.G., Dick, R.P. (Eds.), *Enzymes in the Environment. Activity, Ecology and Applications*. Marcel Dekker, NewYork: 567-596

- Tan, B., Wu, F., Yang, W. et He, X., 2014. Snow removal alters soil microbial biomass and enzyme activity in a Tibetan alpine forest. *Applied Soil Ecology* 76, 34–41. doi:10.1016/j.apsoil.2013.11.015
- Tipping, E., Woof, C., Rigg, E., Harrison, A.F., Ineson, P., Taylor, K., Benham D., Poskitt J., Rowland A.P., Bol R. et Harkness, D.D., 1999. Climatic influences on the leaching of dissolved organic matter from upland UK moorland soils, investigated by a field manipulation experiment. *Environment International*, 25(1), 83-95
- Torn, M.S., Swanston, C.W., Castanha, C. et Trumbore, S.E., 2009. 6. Storage and turnover of organic matter in soil, in: *Biophysico-Chemical Processes Involving Natural Nonliving Organic Matter in Environmental Systems*. doi:10.1002/9780470494950.ch6
- Trumbore S., 2006. Carbon respired by terrestrial ecosystems—recent progress and challenges. *Global Change Biology* 12 (2), 141-153
- Trumbore, S.E. et Czimczik, C.I., 2008. An uncertain future for soil carbon. *Science* 321, 1455–1456. doi:10.1126/science.116023
- Trumbore, S., 2009. Radiocarbon and soil carbon dynamics. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 37, 47-66
- Turner, B.L., 2010. Variation in pH optima of hydrolytic enzyme activities in tropical rain forest soils. *Applied and Environmental Microbiology* 76, 6485-6493
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*. doi:10.1016/0038-0717(87)90052-6
- Vanhala, P., Karhu, K., Tuomi, M., Björklöf, K., Fritze, H., Hyvärinen, H., Liski, J., 2011. Transplantation of organic surface horizons of boreal soils into warmer regions alters microbiology but not the temperature sensitivity of decomposition. *Global Change Biology* 17, 538–550. doi:10.1111/j.1365-2486.2009.02154.x
- Vanhala, P., Karhu, K., Tuomi, M., Sonninen, E., Jungner, H., Fritze, H. et Liski, J., 2007. Old soil carbon is more temperature sensitive than the young in an agricultural field. *Soil Biology and Biochemistry* 39 (11), 1967-2970
- Velde, P. et Barré, P., 2009. *Soils, Plants and Clay Minerals: Mineral and Biologic Interactions*. Edition Springer: 156 p

- Von Lützow, M., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Matzner, E., Guggenberger, G., Marschner, B. et Flessa, H., 2006. Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions - a review. *European Journal of Soil Science* 57, 426–445. doi:10.1111/j.1365-2389.2006.00809.x
- Von Lützow, M., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Flessa, H., Guggenberger, G., Matzner, E. et Marschner, B., 2007. SOM fractionation methods: Relevance to functional pools and to stabilization mechanisms. *Soil Biology & Biochemistry* 39, 2183–2207. doi:10.1016/j.soilbio.2007.03.007
- Von Lützow, M., Kögel-Knabner, I., Ludwig, B., Matzner, E., Flessa, H., Ekschmitt, K., Guggenberger, G., Marschner, B. et Kalbitz, K., 2008. Stabilization mechanisms of organic matter in four temperate soils: Development and application of a conceptual model. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 171, 111–124. doi:10.1002/jpln.200700047
- Von Lützow, M. et Kögel-Knabner, I., 2009. Temperature sensitivity of soil organic matter decomposition-what do we know ? *Biology and Fertility of Soils* 46 (1), 1-15
- Von Lützow et M., Kögel-Knabner, I., 2010. Response to the Concept paper: “What is recalcitrant soil organic matter?” by Markus Kleber. *Environmental Chemistry* 7, 333–335
- Wallenstein, M.D. et Weintraub, M.N., 2008. Emerging tools for measuring and modeling the in situ activity of soil extracellular enzymes. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2098–2106. doi:10.1016/j.soilbio.2008.01.024
- Wallenstein, M.D., McMahon, S.K. et Schimel, J.P., 2009. Seasonal variation in enzyme activities and temperature sensitivities in Arctic tundra soils. *Global Change Biology* 15, 1631–1639. doi:10.1111/j.1365-2486.2008.01819.x
- Wang, G., Post, W.M., Mayes et M.A., 2013. Development of microbial-enzyme-mediated decomposition model parameters through steady-state and dynamic analyses. *Ecological applications* 23 (1), 255-272
- Watts, R.J. et Teel, A.L., 2006. Treatment of Contaminated Soils and Groundwater Using ISCO. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management* 10 (1)
- Wendt, J. W., et Hauser, S., 2013. An equivalent soil mass procedure for monitoring soil organic carbon in multiple soil layers. *European Journal of Soil Science*, 64 (1), 58-65
- Woodward, F.I., 2007. An inconvenient truth. *New Phytologist*. 174, 469–470

- WRB, 2014. World Reference Base for soil resources International. soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Ressource Reports 106, 181 p
- Yano, Y., McDowell, W.H., Aber, J.D., 2000. Biodegradable dissolved organic carbon in forest soil solution and effects of chronic nitrogen deposition. *Soil Biology & Biochemistry* 32, 1743–1751. doi:DOI: 10.1016/S0038-0717(00)00092-4
- Yao, H., Bowman, D., Shi, W., 2011. Seasonal variations of soil microbial biomass and activity in warm- and cool-season turfgrass systems. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1536–1543. doi:10.1016/j.soilbio.2011.03.031
- Yamashita, T., Flessa, H., John, B., Helfrich, M. et Ludwig, B., 2006. Organic matter in density fractions of water-stable aggregates in silty soils: effect of land use. *Soil Biology & Biochemistry* 38, 3222–3234
- Young, I. M. et Crawford, J.W., 2004. Interactions and self-organization in the soil-microbe complex. *Science* 304 (5677), 1634-1637
- Zeglin, L.H., Bottomley, P.J., Jumpponen, a, Rice, C.W., Arango, M., Lindsley, a, McGowan, a, Mfombep, P., Myrold, D.D., 2013. Altered precipitation regime affects the function and composition of soil microbial communities on multiple time scales. *Ecology* 94, 2334–45
- Zhang, W., Parker, K.M., Luo, Y., Wan, S., Wallace, L.L., Hu, S., 2005. Soil microbial responses to experimental warming and clipping in a tallgrass prairie. *Global Change Biology* 11, 266–277. doi:10.1111/j.1365-2486.2005.00902.x
- Zinger, L., 2009. Variations spatio-temporelle de la microflore des sols alpins. Thèse de doctorat, Université Joseph-Fourier-Grenoble I : 212 p
- Zoungrana, C.J., Desjardins, R. et Prévost, M., 1998. Influence de la reminéralisation sur l'évolution de la biodegradabilité de la matière organique naturelle au cours de l'ozonation. *Water Research* 32, 1743–1752

Résumé

Les sols de montagne constituent un réservoir majeur de carbone stocké sous forme de matière organique (carbone organique du sol, COS), potentiellement hautement vulnérable aux changements des conditions climatiques. Afin de comprendre les répercussions des changements des conditions climatiques sur la dynamique du COS des sols de montagne, cette thèse s'appuie sur une expérimentation de transplantation altitudinale de monolithes de sol de prairie subalpine calcaire, mise en place dans le Jura Suisse en 2009. Cette expérimentation permet de simuler deux scénarios réalistes de changements climatiques attendus au cours du 21^{ème} siècle, visant à réchauffer et assécher le climat (+2°C et +4°C ; -20% et -40% de précipitations).

La démarche conceptuelle de cette thèse a été d'étudier les effets des changements des conditions climatiques (variations saisonnières et manipulation climatique) au bout de quatre années d'expérimentation sur (i) la dynamique des communautés microbiennes et de leur activité enzymatique de décomposition du COS, (ii) la dynamique de différents pools de COS qui constituent la ressource énergétique des micro-organismes décomposeurs, (iii) les interactions s'établissant entre les communautés microbiennes et leurs ressources énergétiques et (iv) les stocks de COS du sol.

Nos résultats montrent une très forte dynamique saisonnière du processus de décomposition microbienne se traduisant par de fortes activités enzymatiques de décomposition, une biomasse microbienne plus importante et une structure des communautés microbienne différente lors de la saison hivernale par rapport à la saison estivale. Ces résultats sont en lien avec la dynamique observée des pools les plus labiles du COS (C organique extractible à l'eau et C organique particulaire libre), et des modèles d'équations structurelles montrent que les conditions climatiques (variations saisonnières et manipulation climatique) modifient les interactions s'établissant entre les communautés microbiennes et leurs ressources pour contrôler la décomposition enzymatique du COS.

Enfin, ce travail de thèse montre une forte diminution des concentrations en COS sous l'effet de la manipulation climatique, qui ne peut être expliquée par une décomposition microbienne accrue du COS. Au contraire, nos résultats suggèrent que la diminution de la concentration en COS pourrait être due à l'accélération des processus pédologiques naturels sous les scénarios de changement climatique au sein de ces sols calcaires de prairies subalpines, avec une décarbonatation accrue favorisant la lixiviation du carbone organique dissous et le lessivage du pool de COS associé aux argiles. Ces résultats inédits offrent de nouvelles perspectives de recherche sur les effets des changements climatiques sur l'évolution des stocks de COS.

Mots clés : Sols de montagne ; Changements climatiques ; Dynamique du carbone organique du sol ; Enzymes du sol ; Structure des communautés microbiennes du sol ; Fractionnement des matières organiques du sol ; Spectroscopie infrarouge ; Modèles d'équations structurelles ; Dynamique saisonnière, Régulation du climat par les sols